VPLYV BETA-GLUKÁNOV NA IMUNITNÝ SYSTÉM ČLOVEKA

ANNA CHOVANCOVÁ[a], ERNEST ŠTURDÍK[a, b]

[a] *Katedra výživy a hodnotenia potravín, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie Slovenskej technickej univerzity, Radlinského 9, 812 37 Bratislava*
[b] *Katedra biotechnológií, Fakulta prírodných vied Univerzity sv. Cyrila a Metoda v Trnave, Nám. J. Herdu 2, 917 01 Trnava*

Súhrn: Článok je prehľadom súčasných poznatkov o β-glukánoch ako významných imunostimulačných látkach s dôrazom na ich použitie v preventívnej medicíne. Hlavná pozornosť je venovaná chemickej charakteristike glukánov, ich výskytu a zdrojom. Patričný priestor je vyhradený mechanizmu účinku glukánov na fyziologickej úrovni, ich antikancerogénnej, antimikrobiálnej a antivírusovej aktivite. Príslušné informácie sú spracované s cieľom realizovať vývoj beta-glukánov ako nutraceutík a aditív do funkčných potravín.

Kľúčové slová: literárny prehľad, imunita, stimulátory, beta-glukány, fungálne glukány, cereálne glukány, immunoglukán

1. Úvod

Imunitu môžeme zjednodušene definovať ako schopnosť organizmu brániť sa proti čomukoľvek, čo by mohlo spôsobiť poškodenie zdravia, dokonca i smrť. Môžeme ju charakterizovať ako obranný systém, ktorého orgány, tkanivá a bunky sú rozložené po celom organizme. Spolu sa nazývajú lymfatické orgány, ktoré môžeme rozdeliť na primárne, zodpovedné za produkciu lymfocytov a sekundárne, kde nastáva samotná imunitná reakcia (DE CASTRO a TIMMIS, 2002).

Počet imunitných buniek sa líši aj v závislosti od stavu v ktorom sa organizmus nachádza. Napríklad v prípade infekcie môže počet leukocytov narásť aj niekoľkonásobne. Môžeme ich nájsť roztrúsené po celom organizme - nachádzajú sa v krvi, lymfe, ale aj v jednotlivých orgánoch a tkanivách (BUC, 2001).

Makrofágy sú evolučne najstarší sprostredkovatelia vrodenej imunitnej reakcie. Aj keď tvoria iba 5 - 10 % populácie bielych krviniek, hrajú centrálnu úlohu nielen u vrodenej, ale aj špecifickej imunity. Po vzniku prechádzajú niekoľkými štádiami a na rozdiel od neutrofilov sú pri infekcii schopné sa deliť. Majú tiež vyššiu životnosť a keďže ich odpoveď na infekciu je pomalšia, dominujú v neskorších fázach vrodenej imunitnej reakcie.

Základné vlastnosti imunitného systému sú: jedinečnosť, distribuovanosť, decentralizovanosť, paralelita, robustnosť, odolnosť voči šumu, detekcia anomálií, schopnosť učenia a pamäť (DE CASTRO a TIMMIS, 2002).

Dôsledky zníženej obranyschopnosti organizmu sú všeobecne známe. Neustále zvyšovanie počtu vírusových, bakteriálnych, plesňových, parazitických a alergických

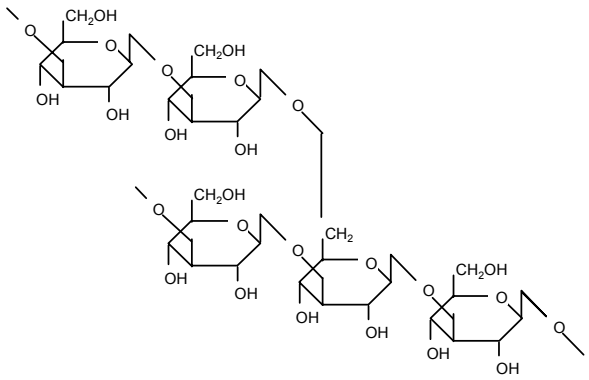
ochorení. Pribúdanie zhubných nádorov, tragický nárast HIV infekcie – AIDS, pribúdanie pacientov s chronickým únavovým syndrómom, zhoršovanie následkov účinkov ultrafialového žiarenia, zvyšovanie hladín prebytočných látok z potravy. To sú dôvody, prečo sú v súčasnosti stále viac vyhľadávané **imunostimulátory** - látky zvyšujúce obranné schopnosti organizmu.

Pod pojmom imunostimulácia rozumieme medicínsku intervenciu do imunitného systému človeka zameranú pozitívnym smerom, t.j. v zmysle ochrany organizmu, reparácie odchýlok prípadne na podporu mechanizmov imunity s cieľom udržať integritu organizmu. Rozlišujeme niekoľko typov imunostimulácie. Ide o vakcináciu, enzýmoterapiu, pôsobenie polynukleotidov a aplikáciu imunoaktívnych látok izolovaných z mikroorganizmov, rastlín či živočíchov (DE CASTRO a TIMMIS, 2002).V rámci posledne menovanej imunostimulácie majú prioritné postavenie beta-glukány. Článok prináša prehľad súčasných poznatkov o ich vplyve na imunitný systém človeka (DE CASTRO a TIMMIS, 2002).

2. Glukány, výskyt a zdroje

Glukány patria medzi homopolysacharidy (glykány). Sú to polysacharidy s dlhým reťazcom, kde jediným štrukturálnym komponentom je glukóza (hexóza). V reťazci je viazaná väzbami v pozíciách 1,3 a 1,6. Menšie postranné reťazce sa rozvetvujú z hlavného reťazca polysacharidu. Najaktívnejšou formou beta-1,3-D glukánov sú tie, ktoré obsahujú postranné reťazce v pozíciách 1,6 a rozvetvujú sa z dlhšieho beta-1,3-glukánového hlavného reťazca. Z tohto dôvodu sa v niektorých literárnych zdrojoch uvádza beta-1,3- glukán aj ako ß-1,3/1,6 glukán.

Základný chemický vzorec molekuly beta glukánu je na Obr. 1.



Obr. 1: Molekulárny vzorec glukánu

Okrem monomérových jednotiek a charakteru ich väzby, do primárnej štruktúry glykánov patrí ešte poloha glykozidovej väzby, stereochemická príslušnosť k α-konfigurácii alebo β-konfigurácii a veľkosť kruhu cyklickej formy glykózovej

jednotky (furanózová alebo pyranózová forma). Ak monosacharidové jednotky nasledujú v reťazci za sebou a obsahujú len jeden druh väzby, prípadne sa v tom istom smere striedajú rozličné väzby, vznikajú lineárne polysacharidy, napr. amylóza – (1→4)-glukán. Vetvené glykány obsahujú na určitých miestach svojej molekuly také glukózové jednotky, z ktorých vychádzajú dve alebo viac glykozidových väzieb (body vetvenia).

Štruktúra glukánu má mimoriadny význam pri aktivácii imunitného systému. Rozhodujúce sú preto postranné reťazce vychádzajúce z hlavného reťazca. Viacpočetné vetvenie glukánu a jeho vyššia molekulová hmotnosť zvyšuje aktiváciu imunitného systému.

β–D-glukány sú nestráviteľné polysacharidy nachádzajúce sa v prírode v zdrojoch ako obilné zrná, kvasinky, huby, baktérie a riasy. β–D-glukány sú primárne lokalizované v bunkových stenách .

β-glukány sú významnou súčasťou vlákniny cereálií, ktorú tvoria nerozvetvené polysacharidy zložené z β-D-glukopyranózových jednotiek viazaných (1→4) a (1→3) glykozidovými väzbami. Spomedzi všetkých obilných zŕn, jačmeň a ovos obsahujú najvyššie množstvá β-glukánov, ktoré tvoria 3-11 % (jačmeň) a 3-7 % (ovos) sušiny. β-glukány sú obyčajne koncentrované vo vnútorných aleurónových bunkových stenách a subaleurónových bunkových stenách endospermu jačmeňa, ovsa a pšenice. Pšenica nie je cenená ako zdroj β- glukánov, pretože ich obsahuje v podstatne nižšom množstve, obyčajne tvoria menej než 1 % sušiny (CHARALAMPOPOULOS a kol., 2002, MEIER a kol., 1995, BELL a kol., 1999).

β–D-glukán z kvasiniek sa nachádza tiež v bunkových stenách spolu s manánmi a chitínom. β–D-glukán z kvasiniek sa skladá z priamej reťaze a rozvetvených polymérov. Štruktúru priamej reťaze tvoria glukózové polyméry viazané (1→3) a (1→6) glykozidovými väzbami. Rozvetvené polyméry sa skladajú z hlavného reťazca s (1→3) glykozidovými väzbami, ktorý obsahuje v rôznej miere (1→6)-β–vetvy. PGG-glukán alebo poly-(1→6)-β–D-glukopyranozyl-(1→3)-β–D-glukopyranóza je geneticky modifikovaný β–glukán zo *Saccharomyces cerevisiae.* Zymozán je názov preparátu získaného zo *Saccharomyces cerevisiae* (pekárenske droždie), ktorý obsahuje β–(1→3)-glukán, β–(1→6)-glukán a iné zložky bunkovej steny ako chitín a mannoproteíny (BOHN a BE MILLER, 1995, HUNTER, GAULT a BERNER, 2002).

Medzi najštudovanejšie β-glukány z húb patrí lentinan z *Lentinus edodes*, grifolan (tiež nazývaný GRN a grifolan LE) z *Grifola frondosa,* schizophyllan (tiež nazývaný SPG, sonifilan, sizofiran a sizofilan) zo *Schizophyllum commune,* SSG zo *Sclerotinia sclerotiorum,* PSK (krestin) z *Coriolus versicolor* a PSP (polysacharidový peptid) tiež z *Coriolus versicolo a pleuran z Pleurotus ostreatus* (KARÁCSONYI a KUNIAK, 1994).

Molekulárny vzorec lentinanu je $(C_6H_{10}O_5)n$. Skladá sa z β-(1→3)-D-glukánovej kostry s β-(1→6)-glukánovými bočnými reťazcami. Molekulová hmotnosť lentinanu je približne 500 kDa, stupeň vetvenia je 2/5 a terciárna štruktúra lentinanu je pravotočivý trojnásobný helix. Grifolan sa tiež skladá z β-(1→3)-D-glukánovej kostry s β-(1→6)-glukánovými bočnými reťazcami. Molekulová hmotnosť grifolanu je približne 500 kDa, stupeň vetvenia je 1/3 a jeho terciárna štruktúra je trojnásobný

helix. Schizophyllan aj SSG obsahujú β-(1→3)-D-glukánovú kostru a β-(1→6)-glukánové bočné reťazce, majú terciárnu štruktúru trojnásobného helixu. Stupeň vetvenia schizophyllanu aj SSG je 1/3. β-glukán izolovaný z *Pleurotus ostreatus* nazývaný pleuran má rozvetvenú štruktúru pozostávajúcu z hlavného reťazca tvoreného β-D-glukopyranózovými zvyškami viazanými (1→3) glykozidovými väzbami, každý štvrtý je substituovaný na O-6 jednou D-glukopyranózovou skupinou. Tento v zásadách nerozpustný polysacharid obsahuje malé množstvá (7 %) zvyškov viazaných (1→6) a (1→4) glykozidovými väzbami (CHANG, 1996). Obsah β-glukánov v niektorých jedlých hubách a ich pomer v rozpustnej a nerozpustnej vláknine je špecifický (Tab. 1).

Tab. 1: Obsah β-glukánov v niektorých jedlých hubách (g/100 g sušiny) a ich rozdelenie do frakcí rozpustnej a nerozpustnej vlákknniny v (%) (MANZI A PIZZOFERRATO, 2000)

Jedlá huba	Obsah β-glukánov ± SD	Vláknina	
		Rozpustná	Nerozpustná
Pleurotus ostreatus (SMR 125)	0,38 ± 0,02	-	-
Pleurotus ostreatus (SMR 127)	0,24 ± 0,03	37,8	62,2
Pleurotus ostreatus (SMR 138)	0,29 ± 0,01	27,1	72,9
Pleurotus eryngii (SMR 133)	0,38 ± 0,01	-	-
Pleurotus eryngii (SMR 173)	0,29 ± 0,03	-	-
Pleurotus eryngii (SMR 172)	0,22 ± 0,01	16,8	83.2
Pleurotus pulmunaris (SMR 126)	0,53 ± 0,04	-	-
Lentinus edodes (SMR 90)	0,22 ± 0,05	46,0	53,9

3. Mechanizmus účinku glukánov

Biologické účinky beta-glukánov sa prejavujú na rôznych úrovniach. Ich hlavná úloha spočíva v aktivácii imunitných buniek nazývaných makrofágy. Glukány sú rozpoznávané leukocytmi pomocou špecifických receptorov. V závislosti od toho, ktorý receptor je zapojený, leukocyt reaguje. Obyčajne ide o receptory, ktoré rozlišujú jednotlivé sacharidové jednotky. Spojením makrofága s beta-1,3-D-glukánom sa makrofág aktivuje (BROWDER a kol., 1990).

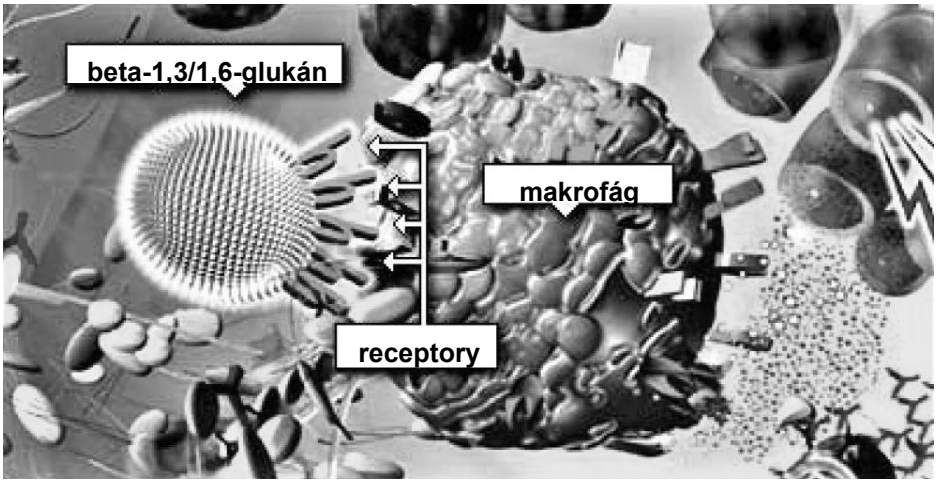
Aktivácia predstavuje nasledujúce deje:

- Zvýšenie fagocytujúcej aktivity makrofágov

- Uvoľnenie primárnych a sekundárnych cytokínov (IL-, IL-2, Il-6,...)
- Uvoľnenie interferónov
- Aktivácia buniek špecifického imunitného systému (T a B bunky)

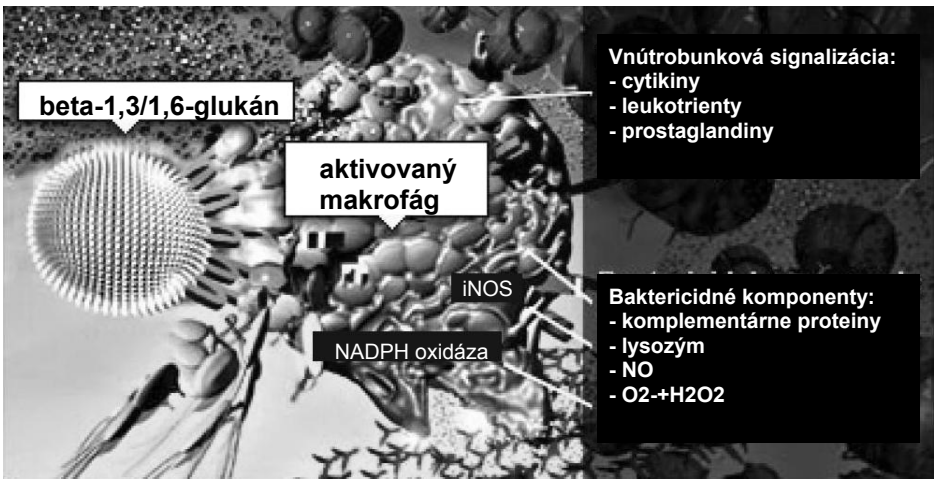
Aktivované makrofágy sa spolu s ďalšími uvoľnenými cytokínmi podieľajú na nešpecifickej imunite: Každý z receptorov navodí inú činnosť fagocytov.

Úlohou makrofágov je pohltiť cudzorodé objekty (baktérie, vírusy) a mobilizovať imunitný systém, rozpoznávať a ničiť poškodené bunky (napr. rakovinové).Veľa receptorov zodpovedá za rozpoznanie a väzbu na cudzorodé štruktúry akými sú mikróby a vírusy. Buď tieto štruktúry na seba naviaže, alebo do nich vpraví rozpoznávacie zlúčeniny opsoníny. Ako už bolo povedané fagocyty a NK-bunky (natural killers-prirodyené zabíjačemajú receptory rozpoznávajúce glukány. Najvyššiu imunostimuláciu vykazujú glukány s vyšším počtom väzbových miest - postranných reťazcov (BROWN a GORDON, 2001). Glukány pôsobia tak na leukocyty (makrofágy) ako i lymfocyty (NK-bunky). Účinok na makrofágy je ilustrovaný na Obr. 2 a Obr. 3.



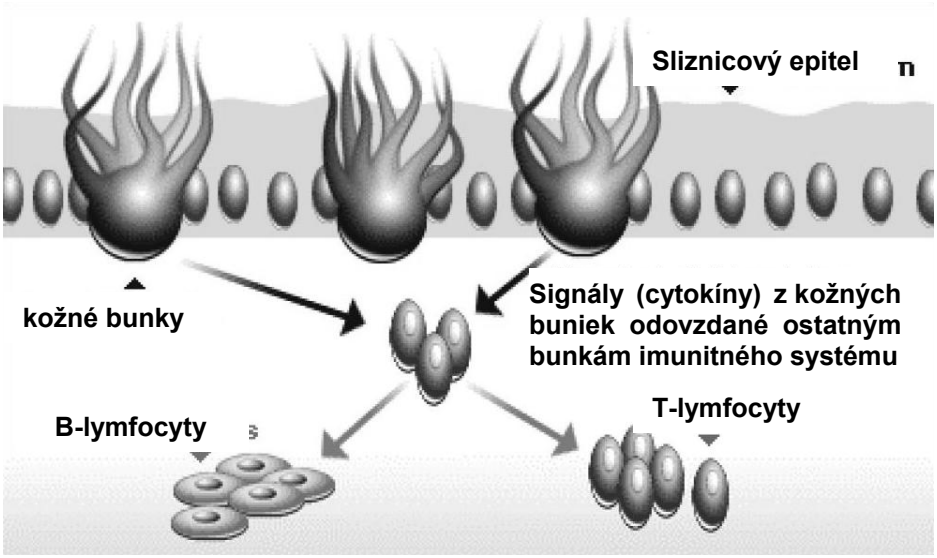
Obr. 2: Interakcia beta-1,3/1,6 - glukánu s makrofágom (http://hladik.hopem.cz/byliny/lecive-ucinky hub.pdf)

Leukocyty (monocyty, makrofágy) a NK-bunky majú povrchové receptory špecificky rozpoznávajúce jednotlivé glukány v závislosti na ich koncentrácii a štruktúre. Ako náhle sa stretne makromolekula glukánu so skupinou glukánových receptorov, bunka je aktivovaná a vytvára baktériocídne zložky ako lyzozým, reaktívne kyslíkové radikály a oxidy dusíka. Ďalej bunky začnú vytvárať niekoľko cytokínov, ktoré aktivujú fagocyty a leukocyty, ktoré zodpovedajú za tvorbu získanej (špecifickej) imunity. Takže glukány indukujú nielen lokálnu aktiváciu buniek, ale aj systematickú reakciu organizmu, pretože cytokíny sú produkované bunkami migrujúcimi z miesta na miesto.



Obr. 3: Aktivácia makrofágov beta-glukánmi (http://hladik.hopem.cz/byliny/lecive-ucinky hub.pdf)

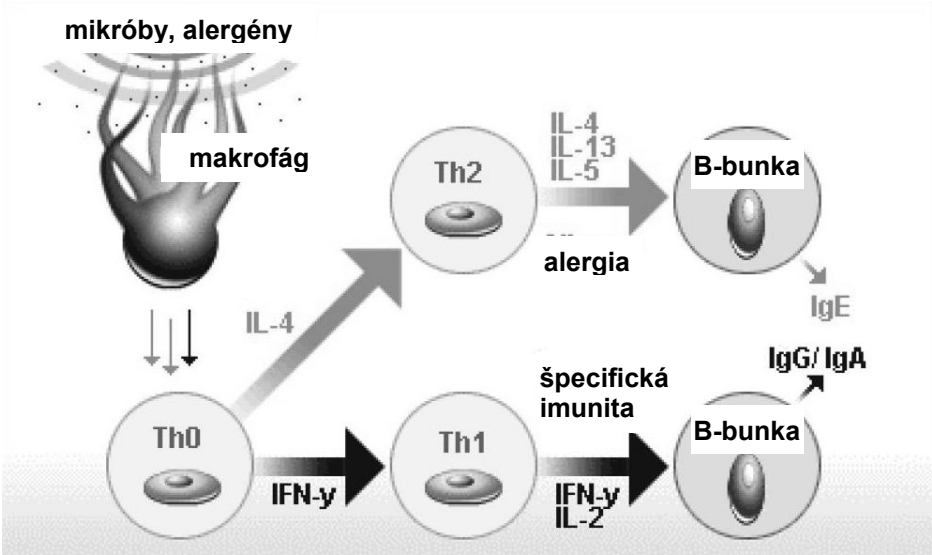
Makrofágy majú schopnosť preniknúť povrchom sliznice, kde sú vystavené pôsobeniu receptorov pre alergény. V dôsledku aktivácie za pomoci imunomodulátorov (včítane glukánov) zachytávajú a ničia cudzorodé látky, mikróby. A alergény sú odstraňované inými bunkami imunitného systému (Obr. 4).



Obr. 4: Prechod makrofágov cez povrch sliznice (http://hladik.hopem.cz/byliny/lecive-ucinky hub.pdf)

NK-bunky nie sú vybavené receptormi pre špecifické antigény a i tak dokážu rozpoznať a ničiť nádorové bunky, alebo bunky napadnuté vírusmi a vyhnúť sa pritom poškodeniu normálnych buniek vlastného organizmu.

Existujú dve subpopulácie pomocných lymfocytov a to Th1 a Th2. Th1 lymfocyty zodpovedajú za imunitu voči intracelulárnym parazitom a Th2 za imunitu proti extracelulárnym. Narušenie rovnováhy medzi Th1 a Th2 a prevládnutie jednej subpopulácie môže spôsobiť autoimunitné reakcie. Prevaha Th2 je spojená so vznikom alergie (Obr. 5).



Obr. 5: Funkcia Th2 pomocných lymfocytov spojená so vznikom alergie
(http://hladik.hopem.cz/byliny/lecive-ucinky hub.pdf)

Každá subpopulácia lymfocytov tvorí charakteristické spektrum cytokínov (prenášačov). Pre lymfocyty Th1 je charakteristickým cytokínom interferón gama (INF-gama). Ďalej tvoria interleukin 2 (IL-2). Naproti tomu pre lymfocyty Th2 je charakteristická tvorba IL-4 a popritom IL-5 a IL-6.

Glukány tvoria podmienky pre vznik rovnováhy v prospech Th1 lymfocytov.

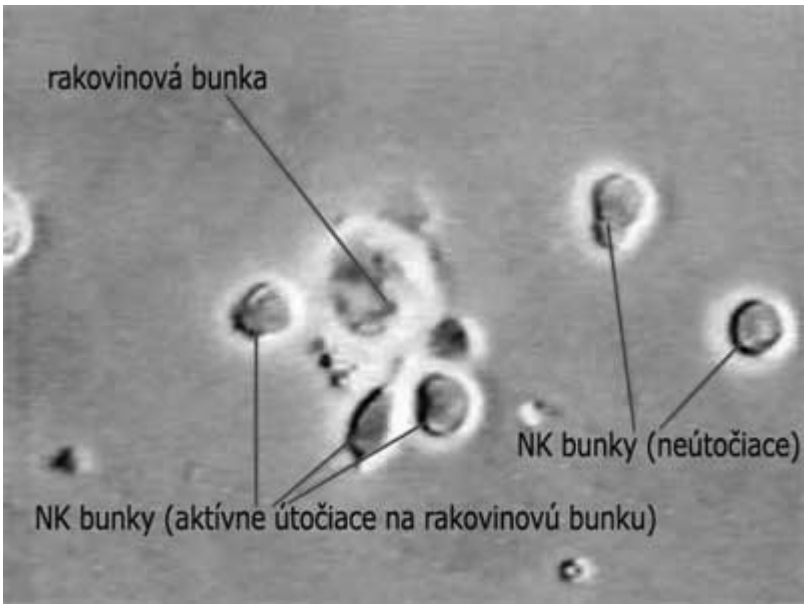
4. Antikancerogénna aktivita

Beta-glukány pomáhajú makrofágom a NK bunkám rozpoznať a likvidovať aj maligne transformované bunky (Obr. 6). Pre poznanie vlastností a účinkov beta-glukánu je významná práca japonských špecialistov z National Cancer Center research institute, Tokyo, uverejnená v roku 1984 (YOSHIOKA, 1985).

V tejto práci autori opisujú, že už dávka 0,1 mg/kg živej váhy vyznačovala protinádorovú aktivitu. Napr. histologický rozbor tkaniva odobraného z melanómu po lokálne podanej injekcii betaglukánovej suspenzie do nádoru, ukázal absenciu tumoru a zvýšené množstvo aktivovaných makrofágov (YOSHIOKA, 1985).

Glukány s vysokou molekulovou hmotnosťou sa javia byť účinnejšie ako glukány s nízkou molekulovou hmotnosťou. Na zlepšenie proti nádorovej aktivity

polysacharidov a ich klinických vlastností (najčastejšie rozpustnosť vo vode) sa často uskutočňuje ich chemická modifikácia. Hlavné procedúry používané pre chemické spracovanie sú: Smithova degradácia (oxidoredukčná-hydrolýza), formolýza a karboxymetylácia (PEKÁREK, 2001). Väčšina klinických dôkazov o protinádorovej aktivite sa týka lentinanu, PSK (krestinu) a schizophyllanu, ale dobré výsledky vykazujú aj polysacharidy niektorých iných druhov húb. Ich aktivita je obzvlášť prospešná, ak sú použité spolu s chemoterapiou. Beta-glukány preukazujú priamu protinádorovú aktivitu proti rôznym nádorom a predchádzajú aj vzniku metastázam (OOIU a LUI, 2000, ROSS a kol., 1999).



Obr. 6: Pohltenie rakovinových buniek NK-bunkami (http://www.natures.sk/SK/beta-glukan.htm)

Protinádorová aktivita (1→3)-β-D-glukánov izolovaných z húb, ako lentinanu, schizophyllanu, sklároglukánu sa prejavuje pri dávkach 1,0-0,2 mg/kg. Účinné dávky α-glukánov sú vyššie než 20 mg/kg. YOSHIOKA a kol. (1985) zistili v neutrálnej polysacharidovej frakcii (A_3) vodného extraktu huby *Pleurotus ostreatus* prítomnosť dvoch zlúčenín: β-glukánu (HA β-glukán) a α-glukánu, ktoré mali protinádorový účinok. Autori zistili, že HA β-glukán je značne rozvetvený (1→3)-β-glukán, má štruktúru pozostávajúcu z pentasacharidových častí skladajúcich sa z jednej neredukujúcej koncovej jednotky, jedného 3,6-di-O-substituovaného zvyšku a troch 3-mono-O-substituovaných β-D-glukopyranózových zvyškov. Protinádorový účinok bol zisťovaný na samičkách myší, ktorým bol podkožne transplantovaný sarkóm 180 (~ 5 x 10^6 buniek). Po uplynutí 24 hodín im bol intraperitoneálne podaný roztok vzorky vo fyziologickom roztoku a dávka sa opakovala denne počas 10 dní. Nádor bol odvážený po piatich týždňoch. Stupeň inhibície, vyjadrený v percentách, bol vypočítaný

porovnaním priemernej hmotnosti nádorov myší, ktorým bol podávaný roztok vzorky s hmotnosťami nádorov myší bez podávania roztoku vzorky. HA β-glukán izolovaný z neutrálnej polysacharidovej frakcie (A_3) preukázal výraznú protinádorovú účinnosť pri dávke 0,1 mg/kg, zatiaľ čo neutrálna polysacharidová frakcia (A_3) mala protinádorovú aktivitu až pri dávke 1 mg/kg (YOSHIOKA, 1985).

Veľmi dobré sa javí spojenie glukánu a klasických metód (chemoterapie, ožarovanie). Táto kombinovaná liečba môže mať významný synergický účinok priamo pri likvidácii nádorových buniek a v neposlednej rade je v týchto prípadoch veľmi dôležitá schopnosť glukánu pôsobiť proti účinku zníženej imunity, ktorú katastroficky vyvoláva klasická protinádorová terapia.

TOHAMY a kol. (2003) skúmali inhibičný vplyv β-glukánov pri indukcii chromozómových aberácií v kostnej dreni a spermatogénnych bunkách myší, ktorým boli podávané rôzne anti-neoplastické lieky. Podávanie β-glukánov (100 mg/kg t.h., i.p.) pred liečením znížilo počet buniek chromozómovými aberáciami zistenými pri liečbe s cyklofosfamidom (2,5 mg/kg t.h., i.p.), adriamycínom (12 mg/kg t.h., i.p.) a s cis-diamminedichloroplatinou-II (cisplatin) (5 mg/kg t.h., i.p.) o 41,1; 26,9 a 57,7 % v kostnej dreni a o 44,4; 55,0 a 57,1 % v spermatogónnych bunkách. Tento ochranný vplyv β-glukánov môže byť pripísaný ich schopnosti zachytiť voľné radikály produkované počas biotransformácie týchto anti-neoplastických liekov. β-glukány taktiež obnovili mitotickú aktivitu buniek kostnej drene, ktorá bola inhibovaná anti-neoplastickými liekmi. Výsledky ukázali, že okrem známej imunopotenciačnej aktivity, majú β-glukány aj úlohu pri znížení genotoxicity indukovanej anti-neoplastickými liekmi počas chemoterapie pri liečbe rakoviny (TOHAMY a kol., 2003, YAN a kol., 1999).

KOGAN a kol. previedli na chemickom ústave SAV štúdiu, ktorou dokázali, že vodorozpustné deriváty β-D-glukánu izolovaného z bunkovej steny pekárenských kvasníc *S. cerevisiae* vykazovali významný antioxidačný efekt porovnateľný s pôsobením známych antioxidantov. Schopnosť zachytávať voľné radikály sa potvrdila i pomocou EPR spektroskopie. Deriváty β-D-glukánu aplikovali v myšacích modeloch pľúcneho karcinómu Lewis a lymfosarkómu. Použitie uvedených polysacharidov najmä v kombinácii s cyklofosfamidom viedlo k značnej inhibícii rastu nádorov a metastáz. Aplikácia derivátov β-D-glukánu viedla tiež k zvýšeniu hladiny inhibítorov cysteínových proteáz stefinu A a cystatinu C v nádorovom tkanive ako i k zvýšeniu koncentrácie katepsínov B,L a D (KOGAN a kol., 2005).

V jednom z najvýznamnejších svetových onkologických centier na svete - Memorial Sloan-Kettering Cancer Center v New Yorku v spolupráci s National Cancer Institute v súčasnosti prebiehaju klinické testy s beta glukánom u pacientov s ťažkými onkologickými ochoreniami ako sú leukémia, metastázujúci neuroblastóm, progredujúci lymfóm a iné (COOPER a TURCASSO, 2005).

5. Antimikrobiálna a antivírusová aktivita beta-glukánov

Molekuly, ktoré sú štruktúrou podobné skléroglukánu, napr. schizophyllan a lentinan, vykazujú antibakteriálnu a antivírusovú aktivitu a v klinických podmienkach znižujú výskyt infekčných komplikácií. (ZADÁK, 2003).

Prehľad glukánov, u ktorých sa zistila antibakteriálna a antivírusová aktivita, prezentuje Tab. 2.

Tab. 2: Prehľad glukánov s protinádorovou, protibakteriálnou a protivírusovou aktivitou (ZADÁK, 2003)

Názov	Zdroj β-(1→3)-D-glukánu	Stupeň rozvetvenia
Pachynan	*Poria cocos*	0,05 – 0,02
Zymosan	*Saccharomyces cerevisiae*	0,03 – 0,20
Lentinan	*Lentinus edodes*	0,23 – 0,33
Pleuran	*Pleurotus ostreatus*	0,25
Skléroglukán	*Sclerotinia*	0,30
Tylopilan	*Tylopilus felleus*	0,33
Schizophyllan	*Schizophyllum comune*	0,33

Lentinan a schizophyllan inhibujú rast *Candida albicans* a *Staphylococcus aureus.* Lentinan preukázal aktivitu tiež proti *Bacillus subtilis, Micrococcus leuteus, Saccharomyces cerevisiae*, je účinný pri spomaľovaní rastu *Mycobacterium tuberculosis* a *Listeria monocytogenes.* Lentinan má tiež antivírusovú aktivitu proti *Vesicular stomatitis,* vírusu encefalitídy, adenovírusu, vírusu influenzy typu A, herpes vírusu, myxovírusu, Abelson vírusu, zvyšuje rezistenciu proti protozoálnym parazitom *Schistosoma japanicum* a *S. mansoni.* PSK (polysaccharide krestin) z *Trametes versicolor* má antimikrobiálnu aktivitu proti *Escherichia coli, Listeria monocytogenes* a *Candida albicans* (BLONDEL, 2001).

HIRASAWA a kol. (1999) študovali antimikrobiálne vlastnosti látok extrahovaných do chloroformu, etylacetátu alebo vody zo sušených húb *Lentinus edodes* meraním priemeru zóny inhibície. Hlavnou zložkou týchto extraktov môžu byť pravdepodobne lenthionín, disulfidové deriváty a lentinan. Tieto látky mali účinnú antimikrobiálnu aktivitu proti *Streptococcus spp., Actinomyces spp., Lactobacillus spp., Prevotella spp. a Porphyromonas spp.* orálneho pôvodu. Iné bežné baktérie ako *Enterococcus spp., Staphylococcus spp., Escherichia spp., Bacillus spp. a Candida spp.* boli proti týmto látkam relatívne rezistentné (HIRASAWA a kol. 1999).

MARKOVA et al. (2003) študovali na myšiach ochranný vplyv lentinanu proti *Mycobacterium tuberculosis in vitro* a *in vivo*. Účinnosť lentinanu podávaného intraperitoneálne pred infekciou v dávke 1 mg/kg trikrát pri dvojdňových intervaloch bola monitorovaná *in vivo* niekoľkými parametrami (telesná teplota, hmotnosť sleziny, počet CFU *M. tuberculosis* v slezine, pečeni a pľúcach a histomorfologické pozorovania). Peritoneálne makrofágy získané zo zvierat, ktorým bol podávaný lentinan, boli významne stimulované, čo bolo zistené stanovením ich počtu, aktivity kyslej fosfatázy, produkcie H_2O_2 a schopnosťou usmrtiť *M. tuberculosis in vitro. In vivo* model ukázal, že podávanie lentinanu pred infekciou môže mobilizovať hostiteľský obranný potenciál a redukovať mykobakteriálnu infekciu (MARKOVA a kol., 2003).

Antimikrobiálny vplyv rozpustného β-(1→3)-D-glukánu zo *Sclerotinia sclerotiorum* (SSG) zisťovali HETLAND et al. (2000) pri myšiach experimentálne intraperitoneálne infikovaných so *Streptococcus pneumoniae* sérotypu 4 a 6B. SSG bol

podávaný i.p. každé 3 dni pred vyvolaním a 3 – 48 h po vyvolaní infekcie. Bol zaznamenaný počet baktérií vo vzorkách krvi a množstvo prežitých myší. Podávanie SSG pred vyvolaním infekcie chránilo v závislosti na dávke pred infekciami *S. pneumoniae* typu 4 aj 6B. SSG vstreknutý 24 h po vyvolaní infekcie mal liečebný účinok pri type 6B, ale nie pri pneumokokových infekciách typu 4. Údaje preukázali, že SSG podávaný systémovo chráni pred pneumokokovými infekciami u myší (HETLAND a kol.,2000).

CHEOL-HEUI et al. (2003) študovali účinok β-glukánu extrahovaného z ovsa na zvýšenie rezistencie proti infekciám spôsobeným *Staphylococcus aureus* a *Eimeria vermiformis* u myší. *In vitro* štúdia za použitia makrofágov izolovaných z peritoneálnej dutiny ukázala, že podávanie β-glukánu významne zvýšilo aktivitu fagocytov. *In vivo* štúdia na myšiach ďalej ukázala, že podávanie β-glukánu spôsobilo významnú ochranu ($P<0,05$) pred *S. aureus*. Zbavovanie sa oocýst fekáliami u myší infikovaných *E. vermiformis* bolo znížené pri podávaní β-glukánu o 39,6 % pri intraperitoneálnom a o 28,5 % pri intragastrickom podávaní v porovnaní so skupinou, ktorá nedostávala β-glukán. Orálne alebo parenterálne podávanie β-glukánu významne zvýšilo rezistenciu voči infekciám *S. aureus* alebo *E. vermiformis* u myší (CHEOL-HEUI a kol., 2003).

Lentinan zvyšuje účinnosť cis-platiny ako cytostatika. Lentinan a SPG boli v Japonsku zavedené ako štandardná súčasť liečby niektorých nádorov. PSK účinkuje ako antioxidant svojou schopnosťou stimulovať tvorbu superoxidu dismutázy (SOD) čo je najvýznamnejší antioxidačný enzým v tele (KULICKE, LETTAU a THIELKING, 1997).

HIV napadá T pomocné bunky a tým znemožňuje aktiváciu normálnej imunitnej odpovedi. Beta- 1,3- D- glukán posilňuje makrofágy, týmto spôsobom rekonštruuje imunitnú odpoveď a reakciu nielen proti HIV, ale i proti infekcii, ktorá nastupuje v oslabenom organizme.

NBG je glukán vyrábaný z kvasiniek.

Glukány sa odlišujú svojimi postrannými reťazcami, ktoré sú špecifické pre jednotlivé druhy húb podľa pôvodu a to Schizophilan z klanolístky *(Schizophillum commune*), Lentinan z huby šiitake (*Lentinus edodes*), Pleuran z hlivy (*Pleurotus ostreatus*), Skleroglukán (*Sclerotium glucanicum*) (Tab. 3).

Tab. 3: Prehľad glukánov zistených v niektorých hubách

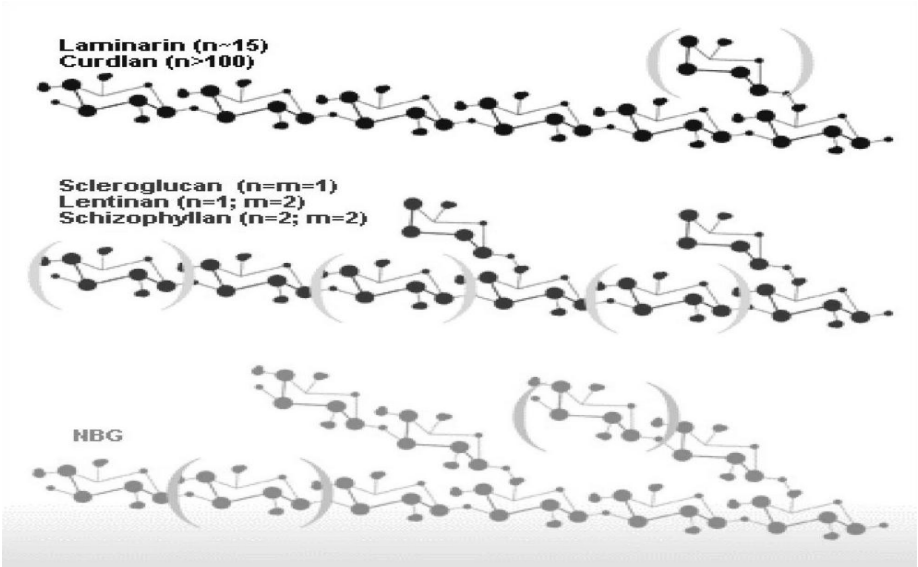
Druh huby	**Názov glukánu**
Húževnatec jedlý *(Lentinus edodes)*	Lentinan
Trsnatec lupenitý *(Grifola frondosa)*	Grifolan, GRN, Grifron-D
Trúdnikovec pestrý *(Trametes versicolor)*	Krestin, (PSK), PSP(polysacharid Kureha)
Klanolístka *(Schizophillum commune)*	Schizophylan, PSG
Hliva *(Pleurotus ostreatus)*	Pleuran
Sclerotinium (*Sclerotinia sclerotiorum*)	Skleroglukan

Bunky makrofágov dokážu pomôcť receptorom (cytokinom) rozpoznať rozdiely medzi jednotlivými glukánmi a podľa toho i reagovať. (Skleroglukán je produkt huby

Sclerotinia sclerotiorum, Lentinan tvoria huby *Lentinus edodes* a Schizophyllan huba *Schizophillum commune* (Obr. 7) (KUBALA a kol., 2005).

Beta-glukán zvyšuje účinky antimikrobiálnych liekov ako sú antibiotiká, protiplesňové a protiparazitárne prípravky. Tým môžeme zvyšovať efekt tradičnej liečby, alebo u bežných ochorení znižovať účinné dávky podávaných liekov.

Prvá štúdia o systémovom účinku beta glukánu u pacientov s HIV bola prevedená v 80-tých rokoch. Dokonca i u týchto ťažko imunologicky postihnutých pacientov dochádza ku stúpnutiu hladiny cytokínov ako je IL-1,IL-2 a interferónu (JAGODZINSKI, 1994).



Obr. 7: Štruktúrny prehľad niektorých glukánov (Skleroglukán, Lentinan, Schizophyllan , NBG).

6. Ďalšie účinky glukánov

Glukán, ako silný zachytávač voľných radikálov (angl. scavenger), pomáha organizmu v boji proti ich negatívnym účinkom. Cieľom podávania antioxidantov je prevencia, pozitívne ovplyvnenie priebehu ochorení. Táto aktivita glukánu je dôležitá i v dermatológii a kozmetológii (BLEICHER, 1995).

Glukánom aktivované makrofágy dokážu lepšie eliminovať bunky alebo ich časti, ktoré boli poškodené radiáciou.

Makrofágy sú v tele hlavným zdrojom interleukínu IL - 1, ktorý zvyšuje produkciu inzulínu. Preto beta-glukán hrá významnú rolu pre zlepšenie života pacientov s cukrovkou (WANG a kol., 1997, KARLA a JOOD, 2000).

Lokálne aplikovaný glukán aktivuje epidermálne makrofágy (Langerhansove bunky) a tým zabraňuje prieniku mikróbov cez poranenie. Ďalej urýchľuje regeneráciu poškodených tkanív. Zaujímavý lokálny účinok beta - glukánu bol preukázaný i v

prípade nepoškodenej kože. Z toho vyplýva, že všetky výrobky s obsahom beta-glukánu sa dajú označiť za novú generáciu dieteticko-podporných a liečivých kozmetických prípravkov. Dá sa povedať, že budú nenahraditeľnou zložkou v obrane proti spomaleniu starnutia (KLIKOVÁ, 2004).

CAVALLERO a kol. (2002) zisťovali vplyv frakcií (1→3, 1→4)-β-glukánov z jačmeňa na glykemickú odozvu organizmu. Výskum potvrdil účinnosť (1→3, 1→4)-β-glukánov v gélovej podobe pri znižovaní hladín glukózy v krvi, aj v prípade konzumácie potravín s vysokým glykemickým indexom.

CHORVATOVIČOVÁ a kol. (1997) študovali možné antimutagénne účinky rôznych glukánových prípravkov. Dokázali supresívny účinok troch derivátov karboxymetylglukánu na početnosť „mikrojadier“ v kostnej dreni polychromatických erytrocytov u myší ožiarených dávkov 6,5 Gy za použitia ^{60}Co. Podobné ochranné účinky boli potvrdené pri intraperitoneálnom a intravenóznom podávaní derivátov karboxymetylglukánu na početnosť cyklofosfamidom vyvolaných mikrojadier. Pri orálnom podávaní bolo zistené, že ultrazvukom depolymerizovaný karboxymetylglukán s nižšou molekulovou hmotnosťou bol účinný proti cyklofosfamidovej mutagenite u myší. Výsledky všetkých týchto štúdií s glukánmi podporujú teóriu o ich prospešnom účinku ako antimutagénov (CHORVATOVIČOVÁ a kol., 1997).

V ďalšej štúdii CHORVATOVIČOVÁ a kol. (1998) preukázali ochranný účinok karboxymetylglukánových derivátov proti cyklofosfamidínu a ^{60}Co mutagenite, ďalej sulfoetylglukánu proti ^{60}Co a karboxymetyl-chitín-glukánu proti CP mutagenite u myší. Vysokomolekulové glukány boli účinnejšie iba pri intraperitoneálnom a intravenóznom podávaní. Pri orálnom podávaní bol účinný proti CP mutagenite len ultrazvukom depolymerizovaný CMG a CMCG s nižšou molekulovou hmotnosťou (CHORVATOVIČOVÁ a kol., 1997).

Beta -glukán získaný z obilia (väzba 1,4) sa ukazuje ako neúčinný pri aktivácii makrofágov, ale môže pomôcť znižovať hladiny cholesterolu (DE FELIPPE a kol., 1993).

Fyzický a emocionálny stres alebo intenzívna záťaž vedie k zníženiu funkcie imunitného systému – navodzuje stav imunosupresie. Vedecky potvrdené údaje ukazujú ,že atleti po ťažkom tréningu trpia problémami ako je nachladnutie, alebo pneumónie. Rovnaká imunosupresia je pozorovateľná pri ochoreniach vyvolaných stresom. Pod vplyvom fyzického stresu klesá počet dostupných makrofágov schopných účasti na imunitnej kaskáde, čo ešte prehlbuje stav imunosupresie. Beta-1,3-β D- glukán stimuluje makrofágy a ostatné imunitné bunky, ktoré následne potlačujú stav imunosupresie vyvolaný ťažkou fyzickou aktivitou (SLAMEŇOVÁ a kol., 2003).

7. Záver

Doteraz známe účinky β-D-glukánov je možné zhrnúť do niekoľkých bodov: zvýšenie imunity proti infekciám (bakteriálnym, vírusovým, kvasinkovým a parazitárnym), ovplyvnenie hemopoetickej aktivity kostnej drene, zvýšenie metabolickej a funkčnej aktivity buniek retikuloendoteliálneho systému, stimulácia

ďalších efektorových buniek imunitného systému (NK-buniek a cytotoxických T-lymfocytov) s následným antikancerogénnym pôsobením, podpora hojenia rán, urýchlenie regeneračných procesov cestou aktivácie makrofágov, protialergický účinok, rádioprotektívny účinok prostredníctvom inaktivácie voľných radikálov, zníženie koncentrácie LDL-cholesterolu, uvoľňovanie interleukínu IL-1 z makrofágov, spomalenie procesu starnutia tkanív antioxidačným pôsobením.

Glukány ako známe zdraviu prospešné látky dominujú ako nutraceutiká avšak chýba väčšia pozornosť venovaná aplikácii glukánov do funkčných potravín a to je oblasť do ktorej vstupujeme i na našom pracovisku.

Literatúra

BELL, S, GOLDMAN, V., M, BISTRIAN, B., R, ARNOLD, A., H, OSTROFF, G., FORSE, R., A.: Effect of beta-glucan from oats and yeast on serum lipids. Crit. rev. food sci. Nutr., 3, 1999, s. 189-202.

BLEICHER, J. : Zabránění infekcím u chirurgických zákroků, J. Biotechnol. Health., 1995, 207 s.

BLONDEL, M.: Mushrooms – magical gift of the forest. 2, J. Cereal Science, 2001, s. 23-6

BOHN, J. A., BeMILLER, J. N.: (1-3)-β-D-Glucans as biological response modifiers: a review of structure-functional activity relationships. Carbohydrate Polym., 28, 1995, s. 3 – 14.

BROWDER, W., WILLIAMS, D., PRETUS, H., OLIVERO, G., ENRICHENS, F., MAO, P., FRANCHELLO, A.: Beneficial effect of enhanced macrophage function in the trauma patient. Ann. Surg., 1, 1990, s. 605-13

BROWN, G., D, GORDON, S.: Immune recognition. A new receptor for beta-glucans, Nat., 3, 2001, s. 36-7.

BUC, M: Imunológia, Bratislava, VEDA, 2001, 463 s.

CAVALLERO, A., EMPILLI, S., BRIGHENTI, F., STANCA, A. M.: High (1-3, 1-4)-β -glucan barley fractions in bread making and their effects on human glycemic response. J. Cereal Science, 36, 2002, s. 59-66.

COOPER, J., TURCASSO, N.: Immunostimulatory Effects of Beta-1, 3-glucan and Acemannan. J. Immunol., 4, 2004, s.13-15.

DE CASTRO, L. N., TIMMIS, J. I.: Artificial Immune Systems: A New Computational Intelligence Approach, J. Immunol., 2, 2002, S. 12-16

DE FELIPPE, J., DA ROCHA, E., SILVA, M., MACIEL, F., M., SOARES, A., D., MENDES, N.,F.: Infection prevention in patients with severe multiple trauma with the immunomodulator beta 1-3 polyglucose (glucan). Obstet. Gynecol., 2, 1993, s. 383-8.

GHONEUM, M., WIMBLEY, M., SALEM, F., MCKLAIN, A., ATTALAN, N. AND GILL, G.: Immunomodulatory and anticancer effects of active hemicellulose compound (AHCC). Int. J.Immunother. 11, 1995,s. 23-28.

HETLAND, G., LOVIK, M., WIKER, H., G.: Protective effect of beta-glucan against mycobacterium bovis, BCG infection in BALB/c mice. Scand. J. Immunol., 12, 1998 , s. 548-53.

HETLAND, G., OHNO, N., AABERGE, I., S., LOVIK, M.: Protective effect of beta-glucan against systematic Streptococcus pneumoniae infection in mice. FEMS Immunol. Med. Microbiol., 27, 2000, s. 111 – 116.

HIRASAWA, M., SHOUJI, N., NETA, T., FUKUSHIMA, K., TAKADA, K.: Three kinds of antibacterial substances from Lentinus edodes (Berk.) Sing. (Shiitake, an edible mushroom). Int. J. Antimicrob. Agents, 11, 1999, s. 151 – 157.

HUNTER, K. W. J.R, GAULT, R. A, BERNER, M. D.: Preparation of microparticulate beta-glucan from Saccharomyces cerevisiae for use in immune potentiation, Lett. Appl. Microbiol., 16, 2002; s. 267-71.

CHANG, R.: Functional properties of edible mushrooms. Nutr. Rev., 54, 1996, s. 91 – 93.

CHARALAMPOPOULOS, D.,WANG, R., PANDIELLA, S. S., WEBB, C.: Application of cereals and cereal components in functional food: a review. Int. J. Food Microbiol., 79, 2002, s. 131 – 141.

CHEOL-HEUI, Y., ESTRADA, A., VAN KESSEL, A., BYUNG-CHUL, P., LAARVELD, B.: □-Glucan, extracted from oat, enhances disease resistance against bacterial and parasitic infections. FEMS Immunol. Med. Microbiol., 35, 2003, s. 67 – 75.

CHORVATOVIČOVÁ, D., ŠANDULA, J., MACHOVÁ, E., KOVÁČIKOVÁ, Z.: Glucan-natural product with antimutagenic effect. Toxicol. Lett., 95, 1998, s. 151-179.

CHORVATOVIČOVÁ, D., ŠANDULA, J., MACHOVÁ, E.: Beta-glucans as antimutagens. Mutation Res./Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 379, 1997, s. 182-245.

JAGODZINSKI, J.: Beta-glukan pomáhá blokovat membránovou fúzi při infekci buněk virem HIV. J. Virol., 12, 1994, s. 202:735.

KARÁCSONYI, Š., KUNIAK, Ľ.: Polysaccharides of Pleurotus ostreatus: Isolation and structure of pleuran, an alkali-insoluble β-D-glucan. Carbohydrate Polym., 24, 1994, s. 107 – 111.

KARLA, S., JOOD, S.: Effect of dietary barley β-glucan on cholesterol and lipoprotein fractions in rat. J. Cereal Sci., 31, 2000, s. 141 – 145.

KLIKOVÁ, M.: Beta-a,3-D-Glukan-řešení pro vaše zdraví, Léky a potravinové doplnky, 42, 2004, s. 7-20.

KOGAN, G., SLAMEŇOVÁ, D., STAŠKO, A., BABINCOVÁ, M., KOROLENKO,T.,A.: Antioxidačné vlastnosti kvasinkového β-D-glukánu a jeho využitie v protirakovinovej terapii. Česká a Slovenská spoločnosť mutagenézy vonkajším prostredím, 2005, s. 9-11.

KUBALA, L, RUZICKOVA, J., NICKOVA, K., SANDULA, J., CIZ, M., LOJEK, A.: The effect of (1-3)- β -glucans, carboxymethylglucan and schizophyllan on human leukocytes in vitro. Carbohydrate Res., 338, 2005, s. 2835-2840.

KULICKE, W.M., LETTAU, A. I., THIELKING, H.: Correlation between immunological activity, molar mass, and molecular structure of different (1-3)- β -D-glucans. Carbohydrate Res., 297, 1997, s. 135 – 143.

MANSEL, J. D., T TAYLOR, T., DOYLE, E., CHASSEAUD, L. F, DARRAGH, A., DA O'KELLY, H OVER, A.: Plasma concentrations of isosorbide dinitrate after

cutaneous and sublingual doses to human subjects, J. Clinical. Pharmac., 21, 1978, s. 18: 544.

MANZI, P., PIZZOFERRATO, L.: Beta-glucans in edible mushrooms. Food Chem., 68, 2000, s. 315 – 318.

MARKOVA, N., KUSSOVSKI, V., DRANDARSKA, S. N., GEORGIEVA, N., RADOUCHEVA, T.: Protective activity of lentinan in experimental tuberculosis. Int. Immunopharmacology, 3, 2003, s. 1557 – 1562.

MEIER, M. L., HECKER, K. D., NEWMAN, R. K.,NEWMAN, C. W.: Hypocholesterolemic effects of foods enriched with barley β-glucan concentrate. J. Am. Assoc., 95, 1995, s. 10-13.

MIURA NN, ADACHI Y, YADOMAE T, TAMURA H, TANAKA S, OHNO N.: Structure and biological activities of beta-glucans from yeast and mycelial forms of Candida albicans, The Journal of Microbiology, J. Immunol., 34, 2003, s. 173-82.

OOIU, V. E, LIU, F. : Immunomodulation and anti-cancer activity of polysaccharide-protein complexes. Curr. Med. Chem., 26, 2000, s. 715-29.

ROSS, G. D, VETVICKA, V., YAN, J., XIA, Y., VETVICKOVA, J.: Therapeutic intervention with complement and beta-glucan in cancer. J. Immunopharmacol., 43, 1999, s. 161-74.

SLAMENOVA, D. L, KOGAN, G., SANDULA, J., BRESGEN, N., LABAJ, J., KRIZKOVA, E., ECKL P.: Protective effects of fungal (1-->3)-beta-D-glucan derivatives against oxidative DNA lesions in V79 hamster lung cells., Cancer Lett., 11, 2003, s. 153-60.

PEKÁREK, M.: Tjemství zdraví a nadeje. Eminent, 2001, 216 s.

TOHAMY, A. A., EL-GHOR, A. A., EL-NAHAS, S. M., NOSHY, M. M.: □-Glucan inhibits the genotoxicity of cyclophosphamide, adriamycin and cisplatin. Mutation Research/Genetic Toxicology and Enviromental Mutagenesis, 541, 2003, s. 45-53.

WANG, L., BEHR, S. R., NEWMAN, R. K., NEWMAN, C. W.: Comparative cholesterol –lowering effects of barley β-glucan and barley oil in golden syrian hamsters. Nutrition Res., 17, 1997, s. 77-88.

WASSER, S. P.: Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. Appl. Microbiol..and Biotechnol., 60, 2002, s. 258-274.

YAN, J., VETVICKA, V., XIA, Y., COXON, A., CARROLL, M. C, MAYADAS, T. N, ROSS, G. D.: Beta-glucan, a "specific" biologic response modifier that uses antibodies to target tumors for cytotoxic recognition by leukocyte complement receptor type 3 (CD11b/CD18). J. Immunol., 45, 1999, s. 3045-52.

YOSHIOKA, Y., TABETA, R., SAITO, H., UEHARA, N., FUKUOKA, F.: Antitumor polysaccharides from P. ostreatus: isolation and structure of a □-glucan. Carbohydrate Res., 140, 1985, s. 93-100.

ZADÁK, Z.: Výživa a imunita. Medinews, 1, 2003, s. 1 – 3.

Influence of beta-glucanes on human immune system

Summary: Article is summary of contemporary recognize about and-glucans like significant immunostimulate material with emphasis on their using in preventively medicine. Main attention is heeding

of glucans chemical characteristic, their appearance and source. Due space is reserved to mechanism of glucans effects on physiological level, their anticancer, antimicrobial and antivirotic activities. Faith information are elaborating with goal to realize of betaine-glucan's development as nutraceuticals and as additives into the functional food.

Keywords: literary survey, immunity, stimulator, beta-glucans, fungicide glucans, cereals glucans, immunoglucans