

Glukan v dnešní medicíně

prof. RNDr. Václav Větvička, Ph.D.¹, MUDr. Josef Richter, CSc.², MUDr. Vladimír Svozil³

¹Univerzita Louisville, Oddělení Patologie, Louisville, USA

²Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem

³Sanatorium EDEL, Zlaté Hory

Glukan je přírodní imunomodulátor intenzivně studovaný v posledních dvaceti letech. Vedle známých účinků v infekční a nádorové imunitě se zájem badatelů v posledních letech zaměřil i na jeho další potenciální účinky. Přehled je doplněn výsledky vlastních klinických studií, prokazujících významné stimulační účinky krátkodobé suplementace glukane u dětí s projevy onemocnění respiračního aparátu.

Klíčová slova: beta glukan, salivární IgA, IgM, IgG, 6 min WT.

Glucan in the present medicine

Glucan is a natural immunomodulator intensively studied the past twenty years. Besides the known effects in infectious and tumor immunity, the interest of researchers in the recent years focused on its other potential effects. The aim of this short review is to provide basic information about glucan. The list is completed with results of our own clinical examination, demonstrating a significant stimulatory effects of short time glucan supplementation in the group of children with diseases of the respiratory tract.

Key words: beta glucan, salivary IgA, IgM, IgG, 6MWT.

Úvod

Beta glukany (dále glukan) patří do skupiny fyziologicky aktivních látek, souhrnně nazývaných imunomodulátory (v angličtině je občas používán název biological response modifiers) a tvoří vysoce konzervované strukturální složky buněčné stěny kvasinek, hub a mořských řas. V minulých desetiletích byly glukany často označovány jako „biologické imunomodulátory“, nebo jako „modulátory biologické odpovědi“ (BRMS). Obecně vzato, glukan je chemický název pro polymer glukózy. Těchto polymerů existuje celá řada, a i když jsou chemicky heterogenní, vžil se pro jejich popis ne zcela přesný termín „beta-glukan“.

Polysacharidy obecně a glukany zvlášť mají coby imunomodulátory dlouhou historii. Prvenství popisu patří pravděpodobně Bushovi, který v polovině 19. století léčil sarkom lokalizovaný v měkké tkáni infekcí erysipelu (1). O několik dese-

tiletí později tento princip rozvinul William Coley, který využíval injekce živé kultury *Streptococcus pyogenes* a později inaktivované kultury (2, 3). Další dokumentovaná historie polysacharidů jako imunomodulátorů sahá do 40. let minulého století, když Shear se svojí skupinou (4) popsal látku, která způsobovala nekrozu nádorových buněk. Teprve později byla tato látka (v té době nazývaná Shearův polysacharid) identifikována jako směs tří polysacharidů s hlavním řetězcem tvořeným jednotkami D-glukózy a D-manózy spojenými glykosylickými vazbami (1, 2, 3).

Po dlouhé době zájmu o zymosan upřeli svoji pozornost různí badatelé na glukan. Ten byl později izolován a jeho vlastnosti začaly být testovány. Pionýrem tohoto výzkumu byl především Nicholas R. DiLuzio (5) z Tulane Univerzity v New Orleansu.

V Japonsku mezitím byl zvolen jiný přístup ke studiu vlastností glukanu. V asijské medicíně

má konzumace nejrůznějších hub (především shiitake, maitake, reishi) dlouhou tradici. V podrobné studii biologických účinků těchto hub, zejména pak účinků při léčbě rakoviny bylo prokázáno, že tyto vlastnosti jsou dány přítomností glukanu nespécificky stimulujících imunitu. Tyto původní studie provedl vědecký tým vedený Goro Chiharou. Tento tým jako první izoloval glukan z hub shiitake a nazval jej „lentinan“ podle původního latinského názvu *Lentinus edodes*, dnes změněného Chiharou et al. na *Lentinula edodes* (6).

Značná heterogenita všech přírodních glukanu, nejenom těch izolovaných z kvasnic, ale také ze všech ostatních zdrojů, samozřejmě byla a je zdrojem vzájemně si odporujících výsledků použití. Dlouhé roky výzkumu buněčné stěny různých druhů hub nevedly k jasnému modelu jejich struktury, a proto koncept jejich organizace podstoupil značný vývoj. Podle Strafforda (7)



KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA: prof. RNDr. Václav Větvička, Ph.D.
Univerzita Louisville, Oddělení Patologie, Louisville
Louisville, KY 40292, USA

Cit. zkr: *Pediatr. praxi.* 2017; 18(2): 110–113
Článek přijat redakcí: 22. 3. 2017
Článek přijat k publikaci: 11. 4. 2017

připomíná buněčná stěna kvasinek železobeton. Armatura představující 35 % hmoty buněčné stěny a tvořená vlákny nerozpustného glukanu je zanořena do manoproteinů (přibližně 25–35 % hmoty buněčné stěny) a svázaná dohromady amorfním glukaniem a chitinem. Buněčná stěna většiny hub má podobné složení. Vynikající přehled chemie buněčných stěn kvasinek a hub najdeme v práci Kogana (8).

V literatuře můžeme najít velké množství údajů, často rozporných, porovnávajících strukturu, molekulární hmotnost a biologické účinky glukanu. Například protinádorová aktivita schyzophyllanu je pravděpodobně ovlivněna přítomností trojroubovice a molekulovou vahou 100 kDa. Je ale možné, že tato struktura nebude za svoje biologické účinky plně odpovědná, neboť většina izolačních postupů tuto strukturu porušuje. Navíc řada nejnovějších studií dřívější předpoklady o nutné optimální velikosti glukanu a jeho větvení nepotvrdila (8). Před více než třiceti lety zjistil Kabat (9), že pro antigenní vlastnosti polysacharidů je zodpovědné pouze šest až sedm monosacharidových jednotek. Velikost vazebního místa pro glukon (například receptor na buňkách jako jsou třeba makrofágy) této velikosti rovněž odpovídá (9).

V oblasti imunity se glukany intenzivně studují posledních třicet let. Během této doby se podařilo prokázat významné účinky glukanu podávaných jak injekčně, tak i orálně a to v oblasti inhibice onemocnění infekčních a nádorových, ve snižování hladiny cholesterolu, aktivaci nespecifické imunitní odpovědi a zlepšení hojení ran. Přehled biologických účinků glukanu je uveden v naší práci (10).

Původní studie účinků glukanu na imunitní systém byly prováděny na myších. Následující studie prokázaly, že glukon má silnou imunostimulační aktivitu u řady dalších biologických druhů, včetně žíhal, krevet, ryb, kuřat, krys, králíků, morčat, ovcí, prasat, krav, koní a lidí. Na základě těchto výsledků můžeme konstatovat, že glukon představuje imunostimulační látku, která je aktivní u tohoto nejširšího spektra biologických druhů a je pravděpodobně jedinou imunostimulační látkou, která je aktivní u každého biologického druhu. Některé pokusy dokonce ukazují na to, že glukon pomáhá chránit také rostliny. Glukon je tudíž nejen biologicky aktivním polysacharidem s velmi silnými imunomodulačními účinky, ale také je z evolučního hlediska

velmi starou imunomodulační látkou (11). S více než 14 000 publikovaných studií jsou glukany současně také nejvíce studovaným přirozeným imunomodulátorem.

Vlastní studie

V poslední době se objevila řada studií dokumentujících nejenom mechanismy působení glukanu, ale i ovlivnění imunitního systému, a to nejenom v experimentu, ale i v klinické aplikaci. Je přijímána skutečnost, že glukany jsou velmi potentními imunomodulátory se schopností ovlivnit vrozenou i získanou imunitní odpověď (12–14). Glukany mohou působit cestou vazby na různé membránové receptory, které se nacházejí v buněčném imunitním systému. Ovlivňují tak řadu reaktivních buněk, jako například monocyty, makrofágy, NK buňky a neutrofile (15). V klinických studiích, kterých v současné době probíhá více než šedesát, se objevuje stále více poznatků o příznivých účincích podávání beta glukanu na ovlivnění diabetu, hypertenze, hypertriglyceridemie, nádorových onemocnění, artritid i alergických onemocnění. Je prokázáno příznivé ovlivnění organismu při radiaci, chemoprotektivní účinek a významný efekt nejenom v léčbě, ale i v prevenci infekčních onemocnění (12–16).

To bylo pro nás podnětem pro provedení klinických studií aplikace glukanu u dětí s chorobami dýchacích cest, alergických onemocnění a astmatem. Cílem těchto studií bylo sledovat nejenom efekt orálně podávaného glukanu na změny parametrů slizniční imunity, ale zaznamenat i případné vedlejší účinky podávaného preparátu a odezvy ve sledovaných parametrech měření fyzické výkonnosti a zlepšení kvality dechových funkcí narušených vlivem působení kontaminantů životního prostředí. Ke sledování vlivu glukanu na slizniční imunitu jsme zvolili odběry slin, neboť v posledních deseti

letech dochází k renesanci vyšetřování proteinů ve slinách (17–19). Důvodem je nejenom to, že odběry slin jsou neinvazivní, nevyžadují přítomnost školeného pracovníka a nepřinášejí riziko přenosu infekcí. Sliny jsou udávány jako „mirror of the body“ s neobvyklými a nedocenenými schopnostmi pro využití v diagnostice různých onemocnění.

Do souboru jsme zařadili děti přijaté do léčby plicních onemocnění ve Zlatých Horách k léčebnému pobytu s režimem péče klimaterapie a speleoterapie. V souboru sledovaných dětí byli jedinci s dg. alergie, astmatu, recidivujících infekcí dýchacích cest a chronického plicního onemocnění. Do souboru sledovaných dětí jsme zařadili celkem 40 dětí ve věku 8–14 let – 21 dětí bylo ve skupině suplementované glukaniem a 19 jedinců bylo zařazeno do kontrolní skupiny. Průměrný věk dětí v obou skupinách byl $10,9 \pm 2,11$ u suplementovaných, resp. $10,7 \pm 2,29$ u placeboskupiny ($p = NS = 0,754$). Ve sledovaných parametrech 6MWT byly hodnoceny doby úpravy frekvence srdečního tepu po zátěži, kde jsme našli statisticky významný rozdíl v poklesu tepové frekvence u dětí po 30denní suplementaci glukaniem proti kontrolnímu souboru ($92,4 \pm 2,8$ proti $102,8 \pm 14,1$ tepu – $p = 0,002$). Ve studii bylo použito statistické zhodnocení s použitím programu GraphPad Prism 502 (GraphPad Software USA). Doba podávání glukanu byla ovlivněna délkou pobytu, s trváním minimálně třicet dnů. Vedle stanovení imunitních parametrů ve slinách bylo provedeno komplexní vstupní vyšetření s denním režimem pravidelného kontrolního klinického vyšetření. V den přijetí a den ukončení byl proveden u dětí test šestiminutové chůze (6MWT) spolu s měřením dalších parametrů, tepové frekvence před a po zátěži, saturace kyslíkem a další (15, 20, 21). Naměřené hodnoty

Tab. 1. Průměrné hodnoty imunoglobulinů ve slinách a jejich standardní odchylky (x/SD). U souboru dětí suplementovaných β -glukaniem ($n = 21$) a u dětí kontrolního, placebo souboru ($n = 19$)

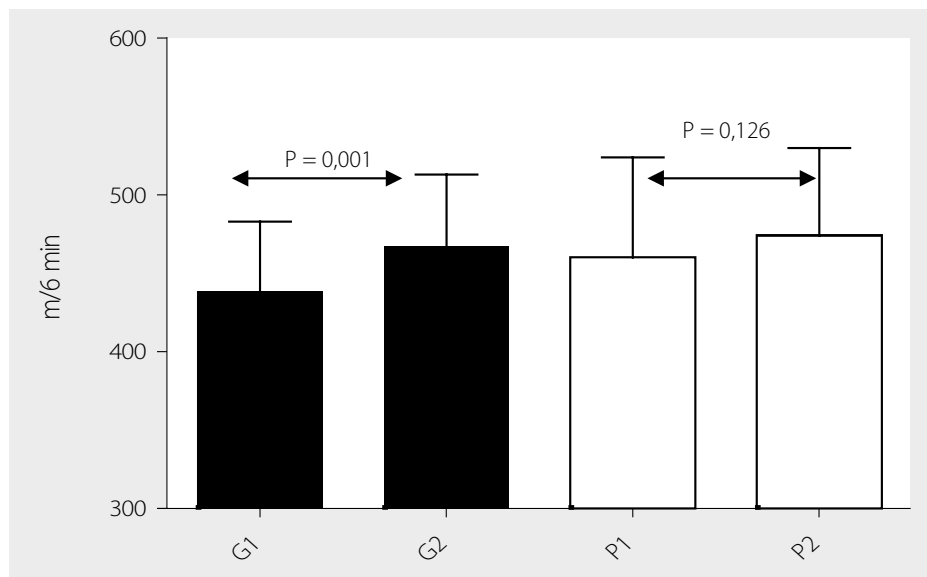
		GL1		GL2	C1		C2
IgG	x/SD	44,3/3,6		47,4/3,2	33,9/2,9		15,5/2,4
	$p <$		0,0001			0,0001	
IgA	x/SD	288,4/30,8		502/26,0	295/23		123/24
	$p <$		0,0001			0,0001	
IgM	x/SD	7,6/3,6		13,2/3,1	12,3/3,2		7,1/2,10
	$p <$		0,001			0,001	

Legenda: Jsou uvedeny průměrné hodnoty (x) a jejich směrodatné odchylky (SD). Významnost nálezů byla kalkulována párovým t-testem s limitem významnosti minimálně $p < 0,05$

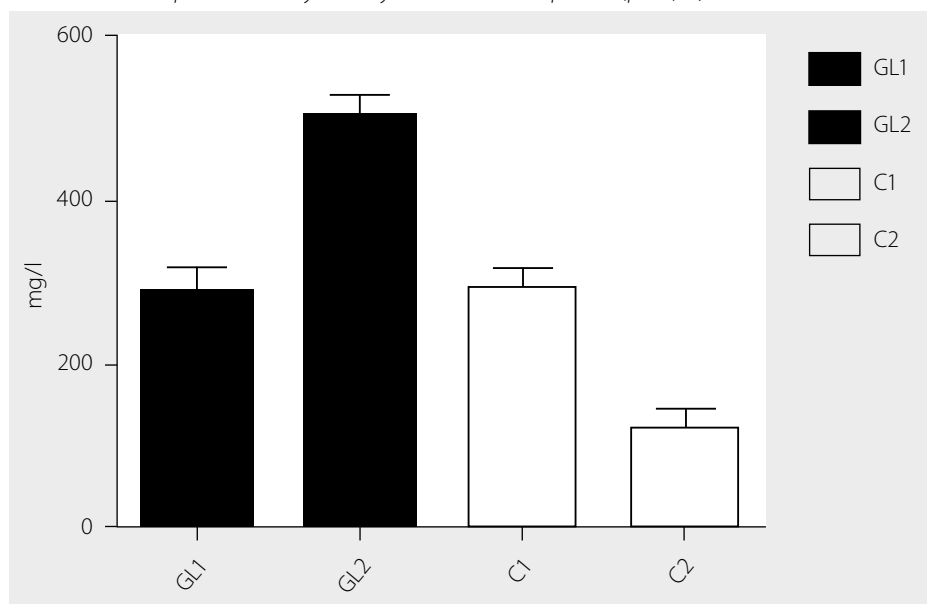
GL1 – 2 skupiny suplementované glukaniem před a po pobytu v sanatoriu

C1 – 2 skupiny s placebo preparátem před a po pobytu v sanatoriu

Graf 1. Šestiminutový test chůze – skupina glukau, $n = 21$ (G1-den 1, G2-den 30) a skupina placebo, $n = 19$ (P1-den 1, P2-den 30)



Graf 2. Efekt 4týdenní orální aplikace glukau (100 mg/den) na hodnoty salivárního IgA. G1 – skupina glukau, den 1, G2 – skupina glukau ($n = 21$) den 30. C1 – kontrolní skupina (placebo – $n = 19$) den 1, C2 – kontrolní skupina den 30. Významný rozdíl v obou skupinách ($p < 0,05$)



6MWT byly u námi sledovaných dětí ve srovnání s literárními údaji podstatně nižší, což bylo významně ovlivněno se základní diagnózou sledovaných dětí (15, 22, 23). V průběhu pobytu docházelo k postupnému celkovému zlepšení fyzické kondice dětí a v závěrečném sledování ke statisticky významnému zlepšení hodnot MWT. Tyto nálezy byly doprovázeny i zlepšením imunitních parametrů a celkovým zlepšením

zdravotního stavu. Tyto indukované změny jsou významnější u dětí mladších, které jsou méně zatíženy celoživotní expozicí škodlivinám životního prostředí, především škodlivinám dopravy, průmyslových exhalátů i nedobrovolného kouření. Nálezy 6MWT ve skupině dětí suplementovaných glukau jsou příznivější a odpovídají zlepšeným parametrům slizniční imunitní odpovědi (graf 1, graf 2, tabulka 1).

Nálezy hodnot sledovaných ukazatelů imunitní odpovědi jsou uvedeny v tabulce 1 a grafu 2. Jak je patrné, jsou vstupní hodnoty IgG ve slinách obou skupiny dětí prakticky ve stejné úrovni, ale ve skupině dětí suplementovaných glukau došlo ke statisticky významnému vzestupu sledovaných hodnot, zatímco u kontrolního souboru došlo ke statisticky významnému poklesu měřených hodnot IgG. Prakticky stejnou dynamiku změn nacházíme u hodnot salivárního IgA, kde jsou hodnoty u obou souborů při vstupním vyšetření na stejné úrovni, ale u suplementovaného souboru došlo k jejich statisticky vysoce významnému vzestupu, zatímco u placebo skupiny došlo k jejich statisticky významnému poklesu. Stejnou dynamiku změn jsme zaznamenali i u IgM, kde u glukau suplementované skupiny dětí došlo k vzestupu hodnot, zatímco u kontrolní skupiny k jejich statisticky významnému poklesu (tabulka 1). Detailní údaje o těchto studiích lze nalézt zde (24–26). Nálezy vzestupu IgA ve slinách odpovídají i modelovým studiím Stuyvena a spol., kteří po podání beta glukau psům zjistili významné zvýšení IgA ve slinách po více než 30 dnech aplikace, zatímco v placebo skupině byl trend opačný (27).

Z těchto údajů i z dalších publikovaných studií lze vyvodit, že glukau nabízí mnohočetné biologické účinky, povětšinou zaměřené na stimulaci jednotlivých součástí imunitního systému (24, 25, 26). Vzhledem k jeho nízké ceně a nulové toxicitě je jasné, že glukau představuje účinný a bezpečný potravní doplněk, který lze doporučit jak u dospělých jedinců, tak i u dětí. Vzhledem k probíhajícímu intenzivnímu výzkumu a nesčetným klinickým studiím lze předpokládat, že se glukau brzy stane oficiálním lékem i v západním typu medicíny. Vyhodnocení účinku glukau u skupin dětí s diagnózou astma bronchiale a CHOPN ve vztahu s vyjmutím z expozice vlivu kontaminant životního prostředí je předmětem našeho dalšího studia (vliv expozice kontaminant dopravy a pasivního kouření). Studium vlivu glukau na modulaci imunitní odpovědi a jejich aplikaci v prevenci i podpůrné léčbě se v poslední době věnují u nás i další pracoviště (28, 29, 30).

LITERATURA

1. Busch W. Verhandlungen artzlicher Gesellschaften. Sitzung der medizinischen Section vom 18. November 1867. Berl Klin Wochenschr 1968; 5: 137–138.
2. Bickels J, Kollender Y, Merinsky O, Meller I. Coley's toxin: Historical perspective. Israel Med Ass J 2002; 4: 471–472.
3. Coley WB. The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas: with a report of ten original cases. Am J Med Sci 1893; 105: 487–511.
4. Shear MJ, Turner FC, Perrault A, Shovelton T. Clinical treatment of tumors. V. Isolation of the hemorrhage-producing

- fraction from Serratia Marcescens (Bacillus prodigiosus) culture filtrates. J Natl Cancer Inst 1943; 4: 81–97.
5. DiLuzio NR, Riggi SJ. The effects of laminarin, sulfated glucan and oligosaccharides of glucan on reticuloendothelial activity. J Reticuloendothel Soc 1970; 8: 465–473.

6. Chihara G, Maeda YY, Hamuro J, Sasaki T, Fukuoka F. Inhibition of mouse sarcoma 180 by polysaccharides from *Lentinus edodes* (Berk.) sing. *Nature* 1969; 222: 687–688.
7. Stratford M. Another brick in the wall? Recent developments concerning the yeast cell envelope. *Yeast* 1994; 10: 1741–1752.
8. Kogan G. (1-3,1-6)- β -D-glucans of yeast and fungi and their biological activity. In: *Studies in Natural Products Chemistry*, Vol. 23., Ed. Atta-ur-Rahman, Elsevier, Amsterdam, 2000: 107–117.
9. Kabat EA. *Structural Concepts in Immunology and Immunochimistry*. Holt, Rinehart and Winston, New York, 1976.
10. Vetvicka V. β -Glucans as Natural Biological Response Modifiers. Nova Biomedical, New York, 2013.
11. Vetvicka V, Sima P. β -Glucan in invertebrates. *Invertebrate Survival J* 2004; 1: 60–65.
12. Bergendiova K, Tibenska E, Majtan J. Pleuran (β -glucan from *Pleurotus ostreatus*) supplementation, cellular immune response and respiratory tract infections in athletes. *Eur J Applied Physiol* 2011; 111: 2033–2040.
13. Lehne G, Haneberg B, Gaustad P, Johansen PW, Preus H, Abrahamsen TG. Oral administration of a new soluble branched β -1,3-D-glucan is well tolerated and can lead to increased salivary concentrations of immunoglobulin A in healthy volunteers. *Clin Exper Immunol* 2005; 143: 65–69.
14. Ramberg JE, Nelson ED, Sinnot RA. Immunomodulatory dietary polysaccharides: a systematic review of the literature. *Nutr J* 2010; 9: 1–22.
15. Li AM, Yin J, Yu CCW, et al. The six-minute walk test in healthy children: reliability and validity. *Eur Respir J* 2005; 25: 1057–1060.
16. American Thoracic Society Documents. ATS/ERS Recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171: 912–930.
17. Ambatipudi KS, Lu B, Hagen FK, Melvin JE, Yates JR. Quantitative analysis of age specific variation in the abundance of human female parotid salivary proteins. *J Proteome Res* 2009; 8: 5093–5102.
18. Brown LR, Frome WJ, Wheatcroft MG. The effect of Skylab on the chemical composition of saliva. *J Dent Res* 1977; 1137–1143.
19. Castagnola M, Picciotti PM, Messana I, et al. Potential applications of human saliva as diagnostic fluid. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2011; 31: 347–357.
20. American Thoracic Society. ATS Statement: Guidelines for the Six-minute Walk Test. *Am J Respir Care Med* 2002; 166: 111–117.
21. Casanova C, Celli BR, Barria P, et al. The 6-min walk distance in healthy subjects: reference standards from seven countries. *Europ Respir J* 2011; 37: 150–156.
22. Karakurt Z, Guven O, Mocin O, et al. Six minute walking distance in kyphoscoliosis patients with chronic respiratory failure. *Multidisciplinary Resp Med* 2010; 5: 244–249.
23. Li AM, Yin J, Au JT, et al. Standard reference for the Six-minute-walk test in healthy children aged 7 to 16 years. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176: 174–180.
24. Vetvicka V, Richter J, Svozil V, et al. Placebo-driven clinical trials of Transfer Point Glucan 300 in children with chronic respiratory problems: Antibody production. *Am J Immunol* 2013; 9: 43–47.
25. Richter J, Svozil V, Kral V, et al. Clinical trials of yeast-derived β -(1-3) glucan in children: effects on innate immunity. *Ann Transl Med* 2014; 2: doi: 10.3978/j.issn. 2305-5839.2014.02.01.
26. Vetvicka V, Richter J, Svozil V, et al. Placebo driven clinical trials of Transfer Point Glucan 300 in children with chronic respiratory problems: III. Clinical findings. *Am J Immunol* 2013; 9(3): 88–93.
27. Stuyven E, Verdonck F, Hoek Van I, et al. Oral administration of β -1,3/1,6-Glucan to Dogs Temporally Changes Total and Antigen-Specific IgA and IgM. *Clin Vaccine Immunol* 2010; 17: 281–286.
28. Šíma P, Turek B, Bencko V. Betaglukany-imunomodulační látky v prevenci a podpůrné léčbě. *Praktický lékař* 2015; 95: 244–248.
29. Bencko V, Šíma P, Turek B. Imunomodulační účinky betaglukanů. *Hygiena* 2016; 61: 167–171.
30. Kocmanová I, Ráčil Z, Koukalová D, Mayer J. Laboratorní stanovení 1,3- β -D-glukanu a jeho využití v diagnostice invazivních mykóz. *Klin mikromol inf lék* 2008; 14: 88–92.