NOVÉ POZNATKY Z OBLASTI beta-GLUKANŮ

PharmDr. Vladimír Végh
Edukafarm, Praha

Beta-glukany jsou typickými látkami ze skupiny látek, jejichž struktura odpovídá s patogenem asociovaným molekulárním vzorům (PAMPs – pathogen-associated molecular patterns). Do určité míry je možno říci, že tyto látky mimikují napadení organismu fungální (kvasinkovou) infekcí, a aktivují tak imunitní odezvu. Jejich konzervativní struktury jsou rozeznávány zejména složkami nespecifické imunity (makrofágy a komplement), které obsahují charakteristické receptory rozpoznávající vzory (PRRs – pattern recognition receptors).

Beta-glukany jsou homopolymery glukózy s lineární molekulou obsahující (1→3)-β-D-glykosidové vazby, popřípadě s větvenou molekulou obsahující postranní řetězce vázané (1→6)-β-D-glykosidovými vazbami. Imunomodulační účinek je závislý na konkrétní struktuře (velikost molekuly, rozsah větvení), která je specifická pro jednotlivé zdroje. Jejich užití vycházelo doposud zejména z tradiční (hlavně orientální) medicíny, kde jsou využívány zejména dřevokazné houby jako hlíva ústřičná (*Pleurotus ostreatus*), shi-take (*Lentinula edodes*), maitake (*Grifola frondosa*) a další. V současné době se využívají i glukany kvasničného původu.

Nové vědecké práce poukazují na přesný molekulární mechanismus účinku beta-glukanů, a podtrhují tak význam jejich izolace z těchto přírodních zdrojů. Standardizace obsahu je pak pouze jedním ze základních požadavků medicíny založené na důkazech.

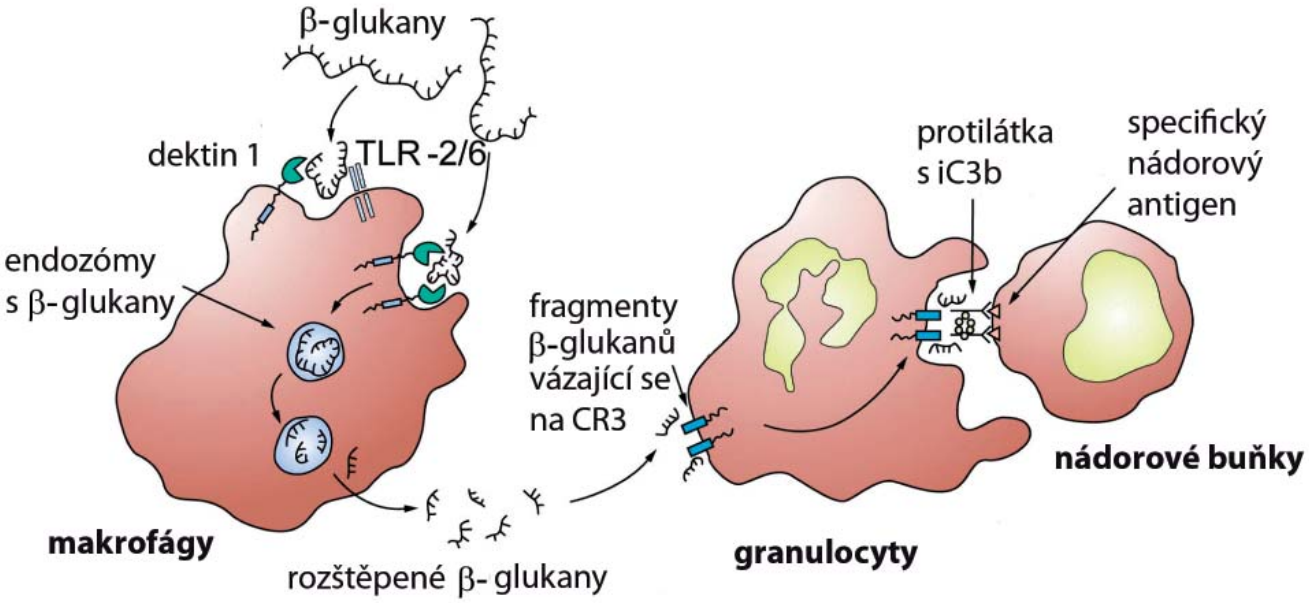
NOVÉ POZNATKY K MECHANISMU ÚČINKU

Většina beta-glukanů je považována za nestravitelné polysacharidy, pouze do jisté míry fermentované střevní mikroflórou. Po perorálním podání rychle procházejí žaludkem do tenkého a následně tlustého střeva. Systémové koncentrace jsou menší než 0,5 %, velmi často dokonce pod hranicí detekovatelnosti. Systémové imunomodulační účinky však jsou prokázány i navzdory těmto nízkým systémovým koncentracím. Původní předpoklad, že nevstřebatelné beta-glukany působí pouze prostřednictvím slizniční lymfatické tkáně střeva (GALT), není podle posledních studií *in vitro* a *in vivo* u zvířat jedinou cestou, kterou dochází k interakcím beta-glukanů a imunitního systému.

Farmakokinetika beta-glukanů *in vivo* byla sledována u myší pomocí fluoresceinem značeného beta-glukanu. Perorálně podávané beta-glukany byly vychytávány makrofágy střevní sliznice pomocí dektin-1 receptoru a fagocytovány. V endosomech makrofágů pak byly přenášeny do sleziny, lymfatických uzlin a kostní dřeně. V těchto orgánech makrofágy štěpí velké molekuly β-glukanů na menší fragmenty, jejichž prostřednictvím jsou ovlivňovány periferní granulocyty. Intravenózně podaný β-glukan může být k periferním granulocytům transportován i přímo.[1] Další prokázanou možností je přímá internalizace epitelovými buňkami střevní sliznice a střevní lymfatické tkáně (GALT).[2]

I když přesný mechanismus účinku β-glukanů na imunitní systém není zatím znám, nedávné práce alespoň částečně osvětlily hlavní kroky, které se podílejí na rozpoznání těchto struktur systémem vrozené imunitní odezvy a přenášejí tyto podněty i na specifickou imunitní odezvu. Jedná o celou řadu paralelně probíhajících mechanismů, ale hlavní roli v tomto procesu hrají receptory dektin-1, komplementový receptor CR3 a receptory TLR-2/6, které spouštějí kaskádu reakcí zasahujících makrofágy, neutrofily, monocyty, NK-buňky a dendritické buňky. Velmi podrobný souhrn současných poznatků přináší nedávno publikovaná přehledová práce Goodridge a spol.[3]

Dektin-1 je považován za nejdůležitější receptor makrofágů rozpoznávající β-glukany. Tento transmembránový protein po navázaní beta-glukanu spouští fagocytózu a produkci zánětlivých cytokinů. Často spolupracuje s receptory TLR2/6. I když celá kaskáda není přesně popsána, výsledkem je zvýšení produkce interleukinů 6, 10 a 12, tumor nekrotizujícího faktoru TNF-α, interleukinu a proliferace mo-



Obrázek: *Nové poznatky z farmakokinetiky a mechanismu účinku β-glukanů podporují použití purifikovaných β-glukanů v imunostimulaci: makrofágy ve střevě fagocytují β-glukany (považované dříve za nevstřebatelné), které jsou v endosomech štěpeny na menší fragmenty. Makrofágy pak tyto fragmenty přenášejí do kostní dřeně a lymfatických uzlin, kde stimulují přítomné granulocyty.*

nonukleárních buněk. Jak bylo uvedeno výše, zajišťuje receptor dektin-1 též internalizaci a fagocytózu nevstřebatelných beta-glukanových řetězců, a tím jejich přenos k dalším částím imunitního systému.

V těchto částech se může uplatňovat další mechanismus působení, který je zprostředkován aktivovaným komplementovým receptorem CR3, nacházejícím se na NK-buňkách, neutrofilech a lymfocytech. Beta-glukany se vážou na lektinové domény leukocytového receptoru CR3 a primují je k vazbě inaktivovaného komplementu iC3b na cílové buňce. V tomto primovaném stavu pak buňky zůstávají 18–24 hodin po vazbě beta-glukanového fragmentu. Výsledkem současného podání beta-glukanů je posílení cytotoxické odezvy neutrofilů CR3(+) vůči nežádoucím buňkám pokrytým iC3b (opsonizovaným). Tento koncept vede k cílenému využití beta-glukanů k posílení odezvy na terapeutické protilátky specifické vůči nádorovým buňkám. Monoklonální protilátky zajistí pokrytí nádorových buněk a vazbu fragmentů iC3b. Posílení cytotoxické odpovědi na takto značené nádorové buňky beta-glukanem tak vede k vyšší klinické odezvě na podanou biologickou léčbu.[4]

První poznatky na podporu tohoto konceptu přinesly experimentální studie na zvířatech. Současné perorální podávání beta-glukanů významně zvyšovalo účinek experimentálních monoklonálních protilátek proti různým typům nádorů u myší. Adjuvatní účinek beta-glukanů přitom nebyl závislý na typu antigenu (GD2, GD3, CD20, epidermální růstový faktor, HER-2), typu nádoru (neuroblastom, melanom, lymfom, epidermální karcinom, karcinom prsu) ani na lokalizaci experimentálního nádoru.[5]

Zajímavé jsou i výsledky získané při použití monoklonálních protilátek schválených pro léčebné použití u lidí. Například v modelu lidského non-hodgkinského i Hodgkinova lymfomu implantovaného myším současné perorální podávání beta-glukanů s rituximabem (MabThera) významně zvyšovalo supresi růstu nádorových buněk oproti samotnému rituximabu (monoklonální protilátka proti antigenu CD20, charakteristickému pro B-buňky).[6]

Podobně v nedávno zveřejněné studii beta-glukany podporovaly účinek bevacizumabu (Avastim) v transplantovaném modelu lidského plicního adenokarcinomu. Tyto nádorové buňky se vyznačují expresí povrchově vázaného VEGF (*vascular endothelial growth factor*). Současné podávání bevacizumabu (monoklonální protilátka proti VEGF) a beta-glukanů v xenograftovém modelu u myší vedlo k výrazně vyšší aktivaci komplementu a k výrazně lepším klinickým výsledkům (nádorová progrese, míra přežívání) než samotné podávání bevacizumabu. Potvrzením této hypotézy je pozorování, že u linií nádorových buněk, které na svém povrchu nenesly VEGF (a tedy nedošlo k vazbě bevacizumabu), nemělo podávání beta-glukanů na nádorový růst žádný významný vliv.[7]

NOVÉ KLINICKÉ ZKUŠENOSTI V PROTINÁDOROVÉ LÉČBĚ

Klinických studií, využívajících nespecificky imunomodulačního účinku beta-glukanů u pacientů s nádorovými chorobami, je celá řada,[8,9] avšak pouze nejnovější studie využívají *translační přístup* k aplikaci nejnovějších výše uvedených molekulárních poznatků.

V letošním roce byly na sympoziu Americké společnosti klinické onkologie (ASCO) zveřejněny výsledky studie fáze Ib/II, sledující podávání glukanu spolu s cetuximabem (Erbitux) a irinotekanem (Camptosar) u pacientů s kolorektálním karcinomem v pokročilém stadiu.[10] Použitý kvasničný beta-glukan Imprime PGG byl specificky vyvinut jako imunoterapeutické léčivo působící synergicky s monoklonálními protilátkami pro adjuvantní léčbu nádorových onemocnění.

Zatímco samotná chemoterapie irinotekanem dosahuje úspěchu pouze u 4 % pacientů a chemoterapie v kombinaci s cetuximabem je účinná u 16 %, přidáním beta-glukanu k tomuto režimu se dosáhlo úspěšné odezvy až u 30 % pacientů. Stabilizace onemocnění bylo irinotekanem dosaženo u 42 % pacientů, po přidání cetuximabu u 45 % pacientů a při použití trojkombinace irinotekan + cetuximab + beta-glukan až u 70 % pacientů. Doba přežití bez progrese onemocnění byla při současném použití beta-glukanu téměř dvojnásobná (irinotekan 10 týdnů, irinotekan + cetuximab 16 týdnů, irinotekan + cetuximab + beta-glukan 22 týdnů). V současné době se ještě čeká na zveřejnění výsledků dosažených ve skupině pacientů užívajících pouze cetuximab a beta-glukan.

ZÁVĚR

Obecný imunomodulační účinek beta-glukanů nachází dosud uplatnění zejména v prevenci běžných infekčních onemocnění. Použití standardizovaných beta-glukanů se vzhledem k jejich minimální toxicitě jeví jako velmi výhodný prostředek pro podporu imunitní odezvy organismu při nádorových onemocněních. Americký národní registr klinických studií (www.clinicaltrials.gov) eviduje aktuálně osm probíhajících klinických studií, v nichž jsou využívány beta-glukany při různých onkologických onemocněních. Po celém světě pak probíhá téměř 30 nejrůznějších klinických zkoušek beta-glukanů. I když k dosažení schváleného použití beta-glukanů jako registrovaných léků je potřeba ještě značné úsilí (a také značné množství financí), dosavadní výsledky jsou zatím velmi slibné.

Literatura

1. Hong F, Yan J, Baran JT, et al. Mechanism by which orally administered beta-1,3-glucans enhance the tumoricidal activity of antitumor monoclonal antibodies in murine tumor models. *J Immunol* 2004;173:797–806.

2. Rice PJ, Adams EL, Ozment-Skelton T, et al. Oral delivery and gastrointestinal absorption of soluble glucans stimulate increased resistance to infectious challenge. *J Pharmacol Exp Ther* 2005;314:79–108.

3. Goodridge HS, Wolf AJ, Underhill DM. Beta-glucan recognition by the innate immune system. *Immunol Rev* 2009;230:38–50.

4. Liu J, Gunn L, Hansen R, Yan J. Yeast-derived beta-glucan in combination with anti-tumor monoclonal antibody therapy in cancer. *Recent Pat Anticancer Drug Discov* 2009;4:101–109.

5. Cheung NK, Modak S, Vickers A, Knuckles B. Orally administered beta-glucans enhance anti-tumor effects of monoclonal anti-bodies. *Cancer Immunol Immunother* 2002;51:557–564.

6. Modak S, Koehne G, Vickers A, et al. Rituximab therapy of lymphoma is enhanced by orally administered (1→3),(1→4)-D-β-glucan. *Leuk Res* 2005;29:679–683.

7. Zhong W, Hansen R, Li B, Cai Y, Salvador C, Moore GD, Yan J. Effect of yeast-derived beta-glucan in conjunction with bevacizumab for the treatment of human lung adenocarcinoma in subcutaneous and orthotopic xenograft models. *J Immunother* 2009;32:703–712.

8. Borchers AT, Keen CL, Gershwin ME. Mushrooms, tumors, and immunity: an update. *Exp Biol Med* (Maywood) 2004;229:393–406.

9. Chan GC, Chan WK, Sze DM. The effects of beta-glucan on human immune and cancer cells. *J Hematol Oncol* 2009;2:25.

10. Tamaro ME, Cornelio GH, Bautista JB, et al. A phase Ib/2, dose-escalating, safety, and efficacy study of imprime PGG, cetuximab and irinotecan in patients with advanced colorectal cancer (CRC). *J Clin Oncol* 2009;27:e15062.

Farmaceutické a medicínské novinky ve vašem e-mailu

Terapeutické přehledy, nová léčiva, studie apod. ze serveru EDUKAFARM.cz

Máte-li zájem o tuto službu, vyplňte prosím svoji e-mailovou adresu na webových stránkách **www.edukafarm.cz** do okénka nadepsaného „**Novinky do mailu**" na prave straně stránky a odešlete stisknutím tlačítka „**go**".