

JOANNA SALUK-JUSZCZAK, KAROLINA KRÓLEWSKA

*Katedra Biochemii Ogólnej
Uniwersytet Łódzki
Banacha 12/16, 90-237 Łódź
E-mail: juszczak@biol.uni.lodz.pl*

β -GLUKAN DROŻDŻY *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* – NATURALNY STYMULATOR UKŁADU IMMUNOLOGICZNEGO

WPROWADZENIE

Pomimo istotnego postępu w zakresie nauk medycznych i związanego z nim dynamicznego rozwoju technik biochemicznych i biotechnologicznych, paradoksalnie, coraz częściej sięga się obecnie do źródeł medycyny naturalnej. Rosnące zainteresowanie wzbudza ziołolecznictwo oraz zasady racjonalnego żywienia, jako alternatywne drogi leczenia, a przede wszystkim wspomaganie terapii farmakologicznych. W ostatnich latach obserwuje się ogólnoswiatowy wzrost zainteresowania i wykorzystania roślin do produkcji związków farmakologicznych (HASIK 2001, WOLSKI i KARWAT 2004). Do produktów roślinnych wykorzystywanych jako leki należą m. in. morfina, chinina, alkaloidy o działaniu przeciwnowotworowym, kolchicyny, glikozydy nasercowe. Obecnie badania zwrócone są w kierunku poszukiwania nowych związków roślinnych, które mogłyby być wykorzystane w leczeniu chorób przewlekłych lub dotychczas uznawanych za nieuleczalne (MAKOWSKA-WĄS i JANECKO 2004). Badania ostatnich lat potwierdziły, że wiele składników roślinnych ma, poza wartościami odżywczymi, również duże znaczenie w zapobieganiu chorobom cywilizacyjnym. Przy zastosowaniu metod analitycznych i farmakodynamicznych, służących do oceny właściwości substancji leczniczych, uzyskuje się coraz więcej danych na temat działania i skuteczności terapeutycznej leczniczych preparatów pochodzenia naturalnego (BUŁHAK-JACHYMCIK i współaut. 2001, HASIK 2001). Uczestnicząc w procesach metabolicz-

nych, naprawczych, detoksykacyjnych i adaptacyjnych ustroju, wpływają one pośrednio na ogólną kondycję organizmu zapobiegając stanom patologicznym (HASIK 2001, WOLSKI i KARWAT 2004). Preparaty pozyskiwane ze źródeł naturalnych charakteryzują się wysoką koncentracją składników biologicznie czynnych. Do związków czynnych zawartych w naturalnych środkach leczniczych zaliczane są substancje o różnorodnej budowie, m.in.: polisacharydy, polifenole, słuzy roślinne, glikozydy, alkaloidy, garbniki, antrazwiązki, antocyjany (BUŁHAK-JACHYMCIK i współaut. 2001, HASIK 2001). Jeden z głównych nurtów, wokół którego skupiają się badania ostatnich lat, to badanie antyoksydacyjnych właściwości tych związków, w celu znalezienia naturalnych antyoksydantów egzogennych. Chroniąc organizm przed skutkami działania reaktywnych form tlenu, naturalne antyoksydanty egzogenne opóźniają procesy starzenia i zwalniają tempo wielu przewlekłych chorób. Organizm ludzki w ochronie przed wolnymi rodnikami i reaktywnymi formami tlenu wykorzystuje endogenne przeciwutleniacze, m.in. kwas moczowy, glutation, bilirubinę, cysteinę oraz układy enzymatyczne (np. katalazę, peroksydazę, dysmutazę nadadtlenkową, peroksydazę glutationową) (GRIENDLING i FITZGERALD 2003). Jednak antyoksydanty dostarczane w diecie stanowią niezmiernie istotny dodatkowy system ochrony. Powszechność występowania polifenoli roślinnych sprawia, że są one nieodłącznymi i ważnymi składnikami

pożywienia o właściwościach antyoksydacyjnych. Właściwości przeciwutleniające wykazują również karotenoidy, witamina C, witamina E zawarte w owocach, warzywach, nasionach, roślinach zielnych (herbaty, zioła). Istotną rolę odgrywają także śladowe ilości metali, takich jak miedź, cynk, magnez i selen zawarte w warzywach. Metale te są kofaktorami enzymów antyoksydacyjnych (SROKA i współaut. 2005).

Poza działaniem antyoksydacyjnym zwraca się uwagę na właściwości antynowotworowe związków roślinnych obecnych w diecie człowieka (GREENWALD i współaut. 2001, SIEJA 2004). Poszukiwania substancji roślinnych, będących potencjalnymi lekami przeciwnowotworowymi, o zdolnościach chemioprewencyjnych, stanowią obecnie ważny aspekt badawczy (TSENG i współaut. 1998). Badania dotyczą substancji chroniących przed mutagenami i karcenogenami i nie wywołujących zarazem ubocznych skutków zdrowotnych (HORTOBAGYI i PICCART 1999, GUENGERICH 2000).

Mechanizm ich działania może polegać albo na bezpośrednim unieszkodliwianiu karcenogenów albo na ochronie komórek poprzez wzmocnienie mechanizmów antyoksydacyjnych, na hamowaniu proliferacji komórek nowotworowych np. poprzez inhibicję kinaz tyrozynowych, na ograniczeniu rozwoju naczyń krwionośnych wokół guza nowotworowego lub na pobudzaniu apoptozy komórek, które uległy transformacji. Chemioprewencyjne działanie składników pochodzenia roślinnego w znacznej mierze jest wynikiem ich przeciwutleniających własności. Reaktywne formy tlenu i azotu mogą wpływać na każdy etap karcynogenezy, od fazy inicjacji do fazy progresji (SZUMIAŁO 2005). Naturalne antyoksydanty hamują powstawanie wolnych rodników, w tym wysoce reaktywnego rodnika hydroksylowego oraz obniżają aktywność enzymów katalizujących reakcje, w których powstają wolne rodniki (np. oksydazy ksantynowej) (SZUMIAŁO 2005).

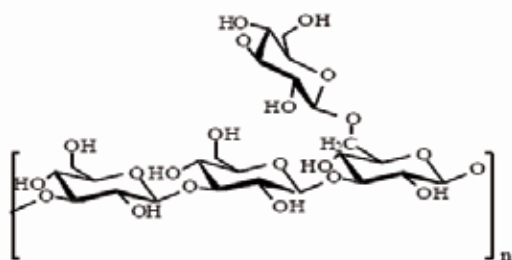
Od wielu lat prowadzone są także liczne badania dotyczące skuteczności terapeutycznej i profilaktycznej substancji modulujących funkcjonowanie układu odpornościowego. Pobudzenie układu odpornościowego

poprzez aktywację komórek immunologicznych jest niezwykle istotne we wszystkich przypadkach, które obciążają nasz system immunologiczny, szczególnie w przypadku chorób infekcyjnych, przy długotrwałym zażywaniu antybiotyków, w wycieńczających organizm chorobach nowotworowych, po naświetlaniach i w chemioterapii. Ogromne znaczenie ma stosowanie preparatów stymulujących układ immunologiczny po zakończeniu terapii lekami immunosupresyjnymi, kiedy stłumione są reakcje odpowiedzi immunologicznej, na przykład przy transplantacjach organów. Niekorzystne, osłabiające organizm czynniki, które permanentnie wpływają na funkcjonowanie układu odpornościowego, to między innymi niewłaściwa dieta, nadmierny wysiłek fizyczny, przemęczenie i długotrwała praca, stres, promieniowanie UV, przewlekłe schorzenia oraz choroby infekcyjne. We wszystkich tych przypadkach niezwykle ważna jest pełna mobilizacja układu immunologicznego możliwie szybko po rozpoczęciu kuracji preparatem immunostymulującym. Zarówno podczas badań laboratoryjnych, jak i klinicznych szczególną uwagę zwrócono na preparaty pochodzenia naturalnego, wykazujące właśnie działanie immunostymulujące. Jednym z takich związków jest izolowany ze ściany komórkowej drożdży *Saccharomyces cerevisiae* (1→3)-β-D-glukan. β-glukan posiada zdolność stymulowania odporności organizmu przeciw infekcjom wywoływanym przez różnorodne patogeny: gramdodatnie i gramujemne bakterie, grzyby, wirusy, pasożyty, a także w stosunku do komórek nowotworowych (LI i współaut. 2005, WÓJCIK i współaut. 2007). Określany jest jako naturalny adiuwant, co oznacza, że jest związkiem wzmacniającym działanie podstawowych preparatów stosowanych w leczeniu konkretnej jednostki chorobowej lub zażywanych dla wzmocnienia organizmu. β-glukan wzmacnia działanie antybiotyków, preparatów przeciwgrzybiczych i przeciwpasożytniczych, jak również preparatów witaminowych i suplementów wzbogacających dietę (HOFER i POSPISIL 1997).

BUDOWA GLUKANU DROŻDŻY *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Glukany, to naturalnie występujące zarówno w organizmach prokariotycznych,

jak i w eukariotycznych polisacharydy, będące polimerami glukozy. Stanowią one



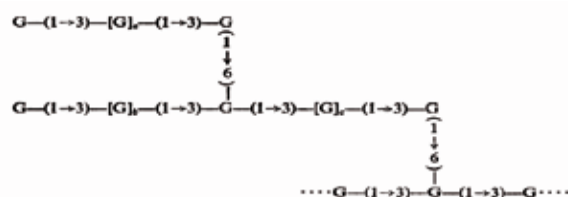
Ryc. 1. Struktura β-(1,3)(1,6)-D-glukanu izolowanego z grzybów wg (LAROCHÉ i MICHAUD 2007)

składnik ścian komórkowych wielu mikroorganizmów, grzybów, a także roślin (GORDON i GORDON 2003, LAROCHÉ i MICHAUD 2007). β-glukany występują w ścianie komórkowej niektórych patogennych bakterii, tj. *Pneumocystis carinii*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus fumigatus* oraz grzybów (*Saccharomyces cerevisiae*). W zależności od pochodzenia β-glukany wykazują różnice w swojej strukturze i tworzą cząstki liniowe, rozgałęzione oraz cykliczne, co ma istotny wpływ na biologiczną aktywność tych związków. Od struktury glukanów, a zwłaszcza od częstotliwości i długości łańcuchów bocznych zależy ich rozpuszczalność.

Występujące w ścianie komórkowej drożdży (*Saccharomyces cerevisiae*) glukan są polimerami D-glukozy, zbudowanymi z rdzenia glukozowego połączonego wiązaniami β-1,3, od którego odchodzą krótkie boczne łańcuchy połączone z nim za pomocą wiązań β-1,6 (AKRAMIENE i współaut. 2007) (Ryc. 1).

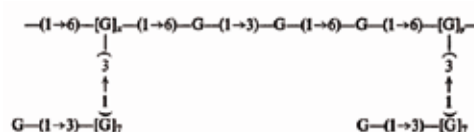
Zawartość glukanów w ścianie komórkowej drożdży waha się w bardzo szerokim przedziale od 29% do 64% i jest uzależniona od warunków hodowli tych grzybów. Pozostała część ściany komórkowej drożdży zbudowana jest z: mannozy 31%, białek 13%, lipidów 9% oraz chityny stanowiącej zaledwie 1-2% ogólnego składu ściany.

Glukan ściany komórkowej drożdży *Saccharomyces cerevisiae* może występować w dwóch postaciach, jako nierozpuszczalny w zasadach (około 80-85% całkowitego glukanu) oraz jako rozpuszczalny, stanowiący od 15 do 20 % (SILKE i współaut. 2007). W ścianie komórkowej drożdży *Saccharomyces cerevisiae* można wyróżnić trzy typy glukanów, różniące się między sobą rodzajem wiązań oraz stopniem rozgałęzienia cząsteczek.



Ryc. 2. Fragment struktury glukanu β-(1→3) (Typ I i III) wg (MENNERS i współaut. 1973); G – cząsteczki glukozy w konformacji β

Typ I, to nierozpuszczalny, wysokocząsteczkowy (około 240 tys. reszt glukozy) glukan β-(1→3) (MANNERS i współaut. 1973). Zawiera on niewielką ilość (około 3%) wiązań β-(1→6), które występują w miejscach bocznych rozgałęzień (WOLSKA-MITASZKO 1985) (Ryc. 2). Typ II, to bardzo rozgałęziony, niskocząsteczkowy glukan β-(1→6), który posiada około 11% wiązań β-(1→3), odpowiedzialnych za boczne rozgałęzienia łańcuchów glukozy (MANNERS i współaut. 1973, WOLSKA-MITASZKO 1985) (Ryc. 3).



Ryc. 3. Fragment struktury glukanu β-(1→6) (Typ II) wg (MENNERS i współaut. 1973); G – cząsteczki glukozy w konformacji β

Typ III, to podobnie jak w przypadku typu I, glukan β-(1→3) z rozgałęzieniami bocznymi w miejscu wiązań β-(1→6). Nie jest to jednak glukan wielkocząsteczkowy, dzięki czemu, w przeciwieństwie do typu I, jest rozpuszczalny w zasadach (Ryc. 2).

Ściana komórkowa drożdży składa się z dwóch warstw. Występujące w niej glukan tworzą bardzo zorganizowaną strukturę, wpływając na stabilizację ściany komórkowej. W zewnętrznej części ściany znajduje się kompleks mannoprotein, natomiast w wewnętrznej występuje nierozpuszczalny w zasadach glukan β-(1→3) (WOLSKA-MITASZKO 1985). Glukan β-(1→6) wiąże się kowalencyjnie z glukanem β-(1→3) i chityną oraz stanowi miejsce zakotwiczenia mannoprotein zewnętrznej warstwy ściany komórkowej (MAGNELLI i współaut. 2002).

BIOLOGICZNA AKTYWNOŚĆ GLUKANU DROŻDŻY *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Przeprowadzając serię badań laboratoryjnych i klinicznych uznano, iż β -glukany pochodzące ze ściany komórkowej drożdży *Saccharomyces cerevisiae* należy zaliczyć do grupy naturalnych preparatów immunostymulacyjnych. Glukan β -(1 $\rightarrow$ 3) drożdży *Saccharomyces cerevisiae* jest aktywatorem funkcji układu siateczkowo-śródlazmatycznego oraz modulatorem immunologicznej odpowiedzi organizmu, zarówno komórkowej, jak i humoralnej. Liczne badania wykazały pobudzający wpływ glukanu β -(1 $\rightarrow$ 3) na niespecyficzną odporność organizmu względem infekcji powodowanych przez bakterie, wirusy, grzyby, jak również przeciw komórkom nowotworowym (HOFER i POSPISIL 1997). Ze względu na wysoką zdolność do pobudzania układu immunologicznego, glukan β -(1 $\rightarrow$ 3) został określony jako biologiczny modyfikator odpowiedzi (ang. Biological Response Modifier, BRM) (SADULA i współaut. 1999).

Immunostymulujące działanie β -glukanu następuje w wyniku jego przyłączenia do specyficznych receptorów obecnych na powierzchni komórek efektorowych, tj. makrofagów, monocytów, neutrofilów oraz limfocytów T i B. Komórki efektorowe, dzięki obecności swoistych receptorów, rozpoznają strukturę β -glukanów, co zapoczątkowuje kaskadę odpowiedzi immunologicznej zarówno typu komórkowego, jak i humoralnego. W wyniku pobudzenia komórek efektorowych dochodzi do sekrecji cytokin, które następnie wzmagają aktywację limfocytów T i makrofagów (PELIZON i współaut. 2005, KUMPRECHTOVA i ILLEK 2007). Prowadzi to do fagocytozy patogenu i do produkcji przeciwciał (KUMPRECHTOVA i ILLEK 2007). β -glukan aktywuje głównie podstawowe komórki układu immunologicznego, jakimi są makrofagi, tworzące tzw. pierwszą linię obrony organizmu, zadaniem której jest pochłanianie i niszczenie czynników chorobotwórczych i komórek traktowanych jako obce dla organizmu, w tym komórek rakowych. Makrofagi występują w wielu narządach oraz we krwi obwodowej, warunkując skuteczną ochronę organizmu przed czynnikami zakaźnymi (VETVICKA i współaut. 1999). Kiedy patogen przekracza barierę nabłonkową ulega fagocytozie za pośrednictwem makrofagów, a następnie jest trawiony enzymami lizosomalnymi uwalnianymi przez makrofagi, co prowadzi do pełnej degradacji fagocytowanego materiału (PELIZON i współaut. 2005, YADAV i

SCHOREY 2006). Aktywacja makrofagów prowadzi również do sekrecji cytokin (interleukin: IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 i czynnika martwicy nowotworu – ang. Tumor Necrosis Factor, TNF- α) oraz czynników prozapalnych (tlenku azotu, NO $\cdot$ oraz nadtlenu wodoru, H $_2$ O $_2$) (KIM i współaut. 2004, AKRAMIENE i współaut. 2007). Makrofagi odgrywają ważną rolę we wszystkich fazach reakcji obronnych gospodarza, zarówno w odpowiedzi wrodzonej, jak i nabytej w wyniku infekcji.

Skutkiem powodowanej przez β -glukan mobilizacji układu immunologicznego jest wzmocnienie naturalnej zdolności organizmu do obrony. Wzmoczona gotowość układu odpornościowego przejawia się zwiększoną mobilizacją komórek odpornościowych w miejscach pojawienia się czynnika chorobotwórczego. Ponadto, wzrasta produkcja białych krwinek w szpiku kostnym oraz zdolność do rozpoznawania i fagocytozy czynnika chorobotwórczego. Dochodzi również do aktywnego prezentowania obcych przeciwciał limfocytom B i T, w wyniku czego poprawia się odporność nabyta, gdzie limfocyty B i T nabywają zdolność rozpoznawania i niszczenia określonych przeciwciał. Pobudzenie układu odpornościowego w wyniku aktywacji makrofagów przez β -glukan odgrywa znaczącą rolę w chorobach infekcyjnych, nowotworowych, po terapii lekami immunosupresyjnymi, antybiotykoterapii, po naświetlaniu, które znacznie obciążają układ immunologiczny (COMPTON i współaut. 1996, BROWN i GORDON 2001).

β -glukan, poza aktywacją makrofagów, komórek T oraz komórek NK (ang. Natural Killer) może także aktywować układ dopełniacza poprzez alternatywny szlak aktywacji. Dochodzi wówczas do opłaszczenia składnikiem C3 dopełniacza, a dokładnie jego fragmentem C3b, patogenów aktywujących dopełniacz. Fragment C3b, w wyniku działania czynnika I surowicy, ulega proteolizie do fragmentu iC3b, który służy do przyłączenia opsonizowanych patogenów do receptorów iC3 komórek fagocytarnych i komórek NK (AKRAMIENE i współaut. 2007).

Immunostymulująca aktywność β -glukanów zależy od stopnia rozgałęzienia cząsteczki, długości i trzeciorzędowej struktury polimeru oraz drogi, jaką został on wprowadzony do organizmu, jego dawki i czasu stosowania (SADULA i współaut. 1999). Wiele β -glukanów izolowanych ze ściany komórko-

wej grzybów wykazuje immunomodulującą aktywność po wprowadzeniu do organizmu w postaci dożylniej. β -glukany nierozpuszczalne lub słabo rozpuszczalne, wprowadzone do organizmu drogą dootrzewnową, wykazują odmienny efekt niż glukany wprowadzone drogą dożylną i powodują rozwój reakcji zapalnej. Aby poprawić rozpuszczalność β -glukanów stosuje się ich karboksymetylację, fosforylację lub sulfoetylację (SADULA i współaut. 1999). Przeprowadzone na myszach badania dowodzą, że w wyniku doustnego lub dożylnego podania preparatu obserwuje się największy stopień aktywacji fagocytów i makrofagów, czego nie można zaobserwować po dootrzewnowym podaniu β -glukanu (LI i współaut. 2005).

β -glukany, dzięki zdolności do stymulowania komórek odpornościowych organizmu, wykazują także właściwości przeciwnowotworowe i odgrywają istotną rolę adjuwanta w chemio- i radioterapii, wspomagając działanie innych stosowanych w leczeniu preparatów (HONG i współaut. 2003, KOGAN i współaut. 2005). Neutropenia, będąca skutkiem ubocznym chemioterapii, upośledza system obronny pacjentów zagrażając niekiedy ich życiu. Z tego względu niezmiernie istotne jest podawanie pacjentom w czasie terapii preparatów zwiększających ich odporność. W badaniach przeprowadzonych na myszach zaobserwowano, że podczas doustnego podawania im cząsteczkowego β -glukanu 24 godziny przed napromienieniem, wzrasta się znacznie proces hematopoezy oraz sekrecji cytokin (IL-1, IL-6, TNF- α), co zwiększa ich szanse przeżycia po napromienieniu (HOFER i POSPISIL 1997). Ponadto, właściwości przeciwnowotworowe β -glukanu warunkują jego zdolność do aktywowania fagocytozy leukocytów i produkcji cytokin zapalnych (HOFER i POSPISIL 1997).

Wśród wielu funkcji, jakie może pełnić β -glukan w organizmie, istotną rolę odgrywa on jako antyoksydant. W ostatnich latach przeprowadzono wiele badań poświęconych antyoksydacyjnej aktywności szerokodostępnych wyciągów naturalnych, które mogłyby chronić organizmy żywe przed niekorzystnym wpływem wolnych rodników (KOGAN i współaut. 2005). Badania te stały się ważną gałęzią rozwoju biomedycyny (KARDOSOVA i MACHOVA 2006).

Uwagę wielu badaczy zwróciły antyoksydacyjne właściwości złożonych wielocukrów, takich jak β -D glukany drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. Okazało się, że rozpuszczalna for-

ma glukanu – karboksymetyloglukan (CMG), wykazuje podobne właściwości, jak dobrze znane przeciwutleniacze, tj. α -tokoferol i mannitol. Przypuszcza się, iż wysoka aktywność antyoksydacyjna glukanów, jak i innych polisacharydów, w porównaniu z usuwaniem wolnych rodników przez monosacharydy, spowodowana jest obecnością w ich cząsteczkach anomerycznych atomów wodoru (SADULA i współaut. 1999). Wynika stąd, że struktura polimeryczna nadaje dodatkowe zdolności usuwania wolnych rodników. Sądzi się bowiem, że antyoksydacyjne właściwości sacharydów wynikają z wyodrębnienia anomerycznego wodoru. Wzmocniona aktywność antyoksydacyjna polimerów względem formy monomerycznej wynika zatem z faktu większej łatwości usunięcia anomerycznego wodoru od jednej z wewnętrznych jednostek sacharydowych (TSIAPALI i współaut. 2001).

(1 $\rightarrow$ 3)/(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glukany z długimi rozgałęzionymi łańcuchami bocznymi stanowią także bardzo istotną grupę prebiotyków stymulujących wzrost i aktywność pożądaną, naturalnej flory jelitowej, a jednocześnie hamujących przy tym rozwój drobnoustrojów chorobotwórczych (*E. coli*, *Salmonella spp.*) (SZYMAŃSKA-CZERWIŃSKA i BEDNAREK 2007). Rozwój flory bakteryjnej przewodu pokarmowego jest uzależniony od wieku i rodzaju stosowanej diety. Ilościowy i jakościowy skład flory bakteryjnej przewodu pokarmowego zdrowego człowieka jest stosunkowo stabilny, z przewagą bakterii z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* pełniących funkcje ochronne. Odgrywają one rolę bariery obronnej przed czynnikami chorobotwórczymi. Ilościowy udział tych bakterii w okrężnicy zmienia się zależnie od wieku, stanu fizjologicznego, stosowanej diety oraz przyjmowanych leków. U niemowląt karmionych piersią florę bakteryjną przewodu pokarmowego stanowią głównie bifidobakterie (TRAFALSKA i GRZYBOWSKI 2006). Sposobem oddziaływania na równowagę mikroflory jelitowej jest przyjmowanie z dietą prebiotyków (CUMMING i współaut. 2001, TRAFALSKA i GRZYBOWSKI 2006). Produkty zaliczane do prebiotyków nie mogą być hydrolizowane ani wchłaniane w górnej części przewodu pokarmowego. Biorąc udział w procesie fermentacji zachodzącym w jelicie grubym, w wyniku którego wytworzony jest kwas octowy, masłowy i propionowy, prebiotyki stanowią substrat dla bytujących tam bifidobakterii oraz regulują równowagę mikroflory jelitowej. Powstające w wyniku fermentacji

krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe dostarczają dodatkowo energii i działają troficznie na nabłonek jelitowy (SOCHA i STOLARCZYK 2002). Podsumowując, należy podkreślić, że działanie β -glukanu izolowanego z drożdży *Saccharomyces cerevisiae* cechuje wysoka efektywność, dzięki czemu możliwa jest szybka odpowiedź organizmu. Ze względu na swoje zdolności immunostymulujące jest on preparatem dostępnym w sprzedaży jako suplement diety, aktywizujący pracę ludzkiego układu odpornościowego (LI i współaut. 2005, WÓJCIK i współaut. 2007). Już po około 72 godzinach od rozpoczęcia kuracji preparat ten w pełni mobilizuje układ odpornościowy człowieka (KUMPRECHTOVA i ILLEK 2007). Badania przeprowadzane z udziałem ludzi dowodzą, iż dzienna dawka β -glukanu powinna wynosić co najmniej 2 mg na 1 kg masy ciała. W USA β -glukan otrzymał status GRAS, co oznacza, że jest to preparat bezpieczny w stosowaniu. β -glukan powinien

być przyjmowany w celach profilaktycznych przez wszystkie osoby, których zdrowie jest zagrożone ze względu na wiek, niską odporność organizmu, stresujący tryb życia lub charakter pracy.

Inną istotną cechą β -glukanu jest jego zdolność do stymulowania biosyntezy kolagenu przez aktywowane fibroblasty. Dzięki temu β -glukan przyspiesza procesy regeneracji tkanek i uczestniczy w gojeniu ran. Dodatkowo, może być stosowany w kosmetyce do łagodzenia podrażnień skóry i w terapii przeciwzmarszczkowej. Pobudzenie fibroblastów do wzmożonej produkcji kolagenu odbywa się prawdopodobnie na dwóch niezależnych drogach. Pośrednio, przy udziale czynników wzrostu i cytokin uwalnianych z aktywowanych przez β -glukan makrofagów oraz w wyniku bezpośredniej aktywacji fibroblastów na skutek przyłączania się cząsteczek β -glukanu do jego receptorów obecnych na powierzchni tych komórek (WEI i współaut. 2002).

RECEPTORY DLA β -GLUKANU

Indukcja odpowiedzi komórkowej, wywoływana przez β -glukany pochodzące m.in. z grzybów, prawdopodobnie obejmuje ich specyficzne oddziaływanie z jednym lub kilkoma receptorami komórkowymi. β -glukany o podobnej masie cząsteczkowej i strukturze wykazują obszerne zróżnicowanie aktywności biologicznej *in vitro* oraz *in vivo*, co może być uwarunkowane nie tylko typem aktywowanej komórki, ale również rodzajem receptora uczestniczącego w interakcji cząsteczki β -glukanu z komórką efektorową. Obecność receptorów dla glukanów została odnotowana na powierzchni leukocytów, makrofagów, monocytów, neutrofilii, eozynofili, komórek NK, a także na niektórych komórkach nieimmunologicznych, w tym na fibroblastach. Dzięki obecności tych błonowych receptorów na powierzchni komórek efektorowych możliwe jest działanie glukanów. Obecnie opisane zostały 4 główne typy receptorów błonowych dla β -glukanu. Należą do nich: receptor 3 dopełniacza (CR3; CD11b/CD18), receptor typu laktozyloceramid (LacCer; CDw17), wybrane receptory zmiataczy i receptor typu dektyna-1 (β GR) – uważany za główny receptor dla β -glukanu, obecny na powierzchni makrofagów (BROWN i współaut. 2002, AKRAMIENE i współaut. 2007).

RECEPTOR 3 DOPEŁNIACZA (CR3; CD11B/CD18)

Receptor ten jest heterodimerską, transbłonową glikoproteiną, składającą się z podjednostek α_m (CD11b) i β_2 (CD18). Podjednostki te łączą się ze sobą za pomocą wiązania niekowalencyjnego i w tej postaci są ekspozowane na powierzchni komórek efektorowych. Funkcją receptora CR3, jako cząsteczki adhezyjnej, jest bezpośredni kontakt z cząsteczką międzykomórkowej adhezji (ang. Anti-Intercellular Adhesion Molecule-1, ICAM-1) oraz pełnienie roli fagocytarnego receptora dla cząstek opłaszczonych iC3b. Receptor CR3 posiada domenę pektynową, położoną C-terminalnie do domeny I, rozpoznającą wybrane monosacharydy β -glukanu, zawarte w zymosanie (niskocząsteczkowym glukanie drożdży, charakteryzującym się różnorodnym składem strukturalnym: 80% składu stanowi β -glukan, pozostałą część – α -glukan, mannan i białka). Domena lektynowa wykazuje jednak największe powinowactwo do polimerów zawierających bardzo małe ilości glukanu i składających się głównie z mannozy (GORDON i GORDON 2003, AKRAMIENE i współaut. 2007). Domena lektynowa odpowiada za nieopsoniczne właściwości receptora CR3, który jest szczególnie moc-

no eksponowany na monocytach, neutrofilach, komórkach NK, a w mniejszym stopniu na powierzchni makrofagów (VETVICKA i współaut. 1999, AKRAMIENE i współaut. 2007).

RECEPTOR TYPU LAKTOZYLOCERAMID (LACCER; CDW17)

Ten receptor jest glikosfingolipidem związanym z błoną komórkową wielu komórek i został zidentyfikowany jako receptor dla β -glukanu w wyniku analiz wykazujących integrację pomiędzy PGG-glukanem (poli-(1-6)- β -D-glukopiranozylo-(1-3)- β -D-glukopiranoza), a wyizolowanymi ludzkimi komponentami błon leukocytów (GORDON i GORDON 2003). PGG glukan należy do klasy związków określanych jako β -glukany. Jest to wysoko oczyszczona rozpuszczalna i aktywna cząsteczka uzyskana z drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. W przeciwieństwie do pozostałych preparatów β -glukanu, PGG glukan nie posiada gorączkotwórczych i zapalnych efektów wynikających ze zdolności do indukcji cytokin, ale zachowuje bardzo silne właściwości immunostymulujące. Początkowa charakterystyka PGG glukanu wykazała, że ma on wysokie powinowactwo dla receptorów β -glukanu obecnego na ludzkich monocytach i neutrofilach. Wiąże się on konkurencyjnie przy stężeniach znacząco niższych niż te wymagane dla innych naturalnych preparatów β -glukanu pochodzących z drożdży *Saccharomyces cerevisiae* (BABINEAU i współaut. 1994).

Sugeruje się, że współdziałanie glukanu z receptorem typu laktozyloceramid może indukować prozapalne białko makrofagów (MIP)-2 (ang. Macrophage Inflammatory Protein), które aktywuje $\text{NF-}\kappa\text{B}$ oraz może wzmacniać neutrofilowy wybuch tlenowy.

Zatem w wyniku oddziaływania β -glukanu z receptorem typu laktozyloceramid pobudzeniu i/lub wzmocnieniu ulegają przeciwbakteryjne funkcje β -glukanu.

RECEPTORY ZMIATACZY

Mimo tego, iż do tej pory nie został jednoznacznie zidentyfikowany żaden receptor zmiataczy (ang. scavenger), to wiele badań donosi, że obecny na makrofagach receptor zmiataczy może rozpoznawać β -glukan. Badania dowodzą bowiem, że rozpuszczalny β -glukan może hamować integrację błony leukocytów z klasycznym ligandem zmiataczy (AKRAMIENE i współaut. 2007).

RECEPTOR TYPU DEKTYNA-1 (BGR-RECEPTOR β -GLUKANU)

Receptor β GR pierwotnie został zidentyfikowany jako receptor rozpoznający pewien nieznany ligand na limfocytach T, co prowadziło do pobudzenia ich komórkowej proliferacji. Receptor ten został wykryty z udziałem anty-dektyny-1 oraz monoklonalnego przeciwciała blokującego, skierowanego przeciwko receptorowi CR3 (BROWN i współaut. 2002).

Receptor typu dektyna-1 posiada pojedynczą domenę C zwaną domeną rozpoznania węglowodanu (CRD) (ang. Carbohydrate Recognition Domain), kontaktującą się z regionem transbłonowym, oraz zawierającą fragment cytoplazmatyczny wyposażony w sekwencje ITAM (motyw aktywny receptorów immunologicznych zawierających reszty tyrozyny; ang. Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif), która odpowiada za przewodzenie sygnału hamującego pobudzenie komórki (PALMA i współaut. 2006, AKRAMIENE i współaut. 2007).

Ludzki receptor przyjmuje kilka specyficznych izoform w komórkach, ale tylko dwie z nich są zdolne do pełnienia odpowiednich funkcji, polegających na rozpoznawaniu węglowodanów zawierających wiązania β -1,3 lub/i β -1,6 i wiązaniu glukanu oraz ekspresji na powierzchni monocytów, makrofagów i neutrofilów. Receptor β GR występuje najczęściej na powierzchni makrofagów i jest głównym receptorem zarówno dla rozpuszczalnego, jak i dla cząsteczkowego β -glukanu w formie zopsonizowanej. Receptor dektyna-1 występuje także na powierzchni komórek T oraz komórek dendrytycznych, ale w znacznie mniejszej ilości niż na makrofagach.

Receptory typu dektyna-1 były zidentyfikowane jako modelowe receptory rozpoznania, których aktywacja pobudza uwalnianie kwasu arachidonowego oraz prowadzi do ekspresji cyklooksygenazy 2 (COX2) w makrofagach. Ekspresja COX2 jest związana z pobudzeniem receptora Toll-like 2 (TLR-2), zależnym od lipopeptydu 2 aktywującego makrofagi, natomiast kwas arachidonowy jest uwalniany w wyniku stymulacji czystą cząsteczką (1-3)- β -D-glukanu (YADAV i SCHOREY 2006, AKRAMIENE i współaut. 2007, MI i współaut. 2007).

PODSUMOWANIE

Badania prowadzone w ostatnich latach dowodzą, że wiele substancji naturalnych, zawartych w codziennej diecie człowieka, poza wartościami odżywczymi, również duże znaczenie w zapobieganiu chorobom cywilizacyjnym. Badania te koncentrują się m.in. nad skutecznością terapeutyczną i profilaktyczną substancji modulujących funkcjonowanie układu odpornościowego. Pobudzenie komórek układu immunologicznego jest szczególnie istotne w przypadku chorób infekcyjnych, przy antybiotykoterapii, długotrwałym zażywaniu leków immunosupresyjnych, w chorobach nowotworowych. Jednym ze związków immunostymulacyjnych jest izolowany ze ściany komórkowej drożdży *Saccharomyces cerevisiae* (1→3)- β -D-glukan, posiadający zdolność indukowania odporności organizmu przeciw infekcjom wywoływanym przez: bakterie, grzyby, wirusy, pasożyty, a także w stosunku do komórek nowotworowych. Jest związkiem wzmacniającym działanie podstawowych preparatów stosowanych w leczeniu lub zalecanym dla wzmocnienia organizmu. β -glukan wspomaga działanie antybiotyków, preparatów przeciugrzybiczych i przeciwpasożytniczych, jak również preparatów witaminowych i suplementów wzbogacających dietę. Immunostymulujące działanie β -glukanu następuje w wyniku jego przyłączenia do specyficznych receptorów obecnych na powierzchni komó-

rek efektorowych, tj. makrofagów, monocytów, neutrofilów oraz limfocytów T i B, co zapoczątkowuje kaskadę odpowiedzi immunologicznej zarówno typu komórkowego jak i humoralnego. Immunostymulująca aktywność β -glukanów zależy od stopnia rozgałęzienia cząsteczki, długości i trzeciorzędowej struktury polimeru oraz drogi, jaką został wprowadzony do organizmu, jego dawki i czasu stosowania. β -glukan dzięki zdolności do stymulowania komórek odpornościowych organizmu wykazuje także właściwości przeciwnowotworowe. Rozpuszczalna forma glukanu – karboksymetyloglukan (CMG), wykazuje silne właściwości antyoksydacyjne, podobne do dobrze znanych przeciwutleniaczy tj. α -tokoferolu i mannitolu. Ponadto, β -glukan należy do bardzo istotnej dla organizmu grupy prebiotyków, stymulujących wzrost i aktywność pożądaną, naturalnej flory jelitowej. Inną istotną cechą β -glukanu jest jego zdolność do stymulowania biosyntezy kolagenu przez aktywowanie fibroblastów, przez co β -glukan przyspiesza procesy regeneracji tkanek i uczestniczy w gojeniu ran.

Wykorzystywanie β -glukanu jako immunostymulatora stosowanego w prewencji lub współdziałającego w terapii wielu chorób niesie ogromny potencjał, co znajduje ostatnio odzwierciedlenie w rosnącej liczbie komercyjnych preparatów zawierających ten związek, rekomendowanych jako suplementy diety.

B-GLUCAN FROM *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* – THE NATURAL STIMULATOR OF IMMUNE SYSTEM

Summary

In recent years, increased attention has been paid to β -glucans isolated from the cell walls of fungi that act as nonspecific modulators of immune system. β -glucan, a cell wall polysaccharide in many microorganism, fungi and algae, is a well-known biological response modifier (BRM). The cell wall of *Saccharomyces cerevisiae* consists of approximately 29–64% β -glucans. β -glucan from *Saccharomyces cerevisiae* possesses the strong positive influence on the immune system, resulting in antibacterial, wound-healing and antitumor activities. It is known that the immunomodulatory effects of β -glucans are influenced by their degree of branching, polymer lengths and tertiary structure. Most fungal β -glucans exhibit immunomodulatory activity when admin-

istered intravenously or intraperitoneally. β -glucan may directly activate cells, stimulating their phagocytic and antimicrobial activities, including the production of reactive intermediates and proinflammatory mediators, cytokines and chemokines. β -glucan receptor activity has subsequently been reported on a variety of other leukocytes, including macrophages, neutrophils, eosinophils and NK cells, as well as on nonimmune cells including endothelial cells, alveolar epithelial cells and fibroblasts. In addition to these, β -glucan also exhibits antioxidative capabilities. It is one of natural substances, known as antioxidants, which are able to protect living organisms from the attack of reactive radical species and in this way to decrease the risk of several diseases.

LITERATURA

- AKARMIENE D., ANATOLIJUS K., DIDZIAPETRIENE J., KEVELEITIS E., 2007. *Effects of β -glucans on the immune system*. Medicina (Kaunas) 43, 597–606.
- BABINEAU T. J., MARCELLO P., SWAILS W., KENLER A., BISTRAN B., FORSE R. A., 1994. *Randomized phase I/II trial of a macrophage-specific immunomodulator (PGG-glucan) in high-risk surgical patients*. Ann. Surg. 220, 601–609.
- BROWN G. D., GORDON S., 2001. *Immune recognition. A new receptor for beta-glucans*. Nature 413, 36–37.
- BROWN G. D., TAYLOR P. R., REID D. M., WILLMENT J. A., WILLIAMS D. L., MARTINEZ-POMARES L., WONG S. Y., GORDON S., 2002. *Dectin-1 as a major beta-glucan receptor on macrophages*. J. Exp. Med. 196, 407–12.
- BUEHAK-JACHYMCIK B., NIEDŹWIECKA-KACIK D., PAN-CZENKO-KRESOWSKA B., WARTOWICZ M., ZIEMLAŃSKI S., 2001. *Normy żywienia człowieka – fizjologiczne podstawy*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL 1, 78–432.
- COMPTON R., WILLIAMS D., BROWDER W., 1996. *The beneficial effect of enhanced macrophage function on the healing of bowel anastomoses*. Am. Surg. 62, 10–14.
- CUMMING J. H., MACFARLANE G. T., ENGLYST H. N., 2001. *Prebiotic digestion and fermentation*. Am. J. Clin. Nutr. 73, 415–420.
- GORDON D., GORDON B. S., 2003. *Fungal β -glucans and Mammalian Immunity*. Immunity 19, 311–315.
- GREENWALD P., CLIFFORD C. K., MILNER J. A., 2001. *Diet and cancer prevention*. Eur. J. Cancer 37, 948–965.
- GRIENDLING K. K., FITZGERALD G. A., 2003. *Oxidative stress and cardiovascular injury*. Circulation 108, 1912–1916.
- GUENGERICH F. P., 2000. *Metabolism of chemical carcinogens*. Carcinogenesis 21, 345–351.
- HASIK J., 2001. *Usprawnienia dietetyczne procesów metabolicznych. Co to są witaminy?* Postępy Fitoterapii 6, 9–11.
- HOFER M., POSPISIL M., 1997. *Glucan as stimulator of hematopoiesis in normal and gamma-irradiated mice*. Int. J. Immunopharmac. 19, 607–609.
- HONG F., HANSEM D., YAN J., ALLENDORF D. J., BARAN J. T., 2003. *β -glucan functions as an adjuvant for monoclonal antibody immunotherapy by recruiting tumoricidal granulocytes as killer cells*. Cancer's 63, 9023–31.
- HORTOBAGYI G. N., PICCATR M. J., 1999. *Current management of advanced breast cancer*. Semin. Oncol. 23, 1–5.
- KARDOSOVA A., MACHOVA E., 2006. *Antioxidant activity of medicinal plant polysaccharides*. Fitoterapia 77, 367–373.
- KIM G. Y., CHOI G. S., LEE S. H., PARK Y. M., 2004. *Acidic polysaccharide isolated from Phellinus linteus enhances through the upregulation of nitric oxide and tumor necrosis factor- α from peritoneal macrophages*. J. Ethnopharmacol. 95, 69–76.
- KOGAN G., STASKO A., BAUEROVA K., POLONKA M., 2005. *Antioxidant properties of yeast (1 $\rightarrow$ 3)- β -D-glucan studied by electron paramagnetic resonance spectroscopy and its activity in the adjuvant arthritis*. Carbohydrate Polymers 61, 18–28.
- KUMPRECHTOVA D., ILLEK J., 2007. *Effect of Saccharomyces cerevisiae on performance and metabolic profile of calves*. Rev. Rom. Med. Vet. 17, 2.
- LAROCHE C., MICHAUD P., 2007. *New developments and prospective applications for β (1,3) glucans*. Recent Patents Biotechnol. 1, 59–73.
- LI J., XING J., LI D., WANG X., ZHAO L., LY S., HUANG D., 2005. *Effects of beta-glucan extracted from Saccharomyces cerevisiae on humoral and cellular immunity in weaned piglets*. Arch. Anim. Nutr. 59, 303–312.
- MAGNELLI P., CIPOLLO J. F., ABEIJON C., 2002. *A refined method for the determination of Saccharomyces cerevisiae cell wall composition and β -1,6-glucan fine structure*. Anal. Biochem. 301, 136–50.
- MAKOWSKA-WAS J., JENECZKO Z., 2004. *Bioavailability of plant polyphenols*. Postępy Fitoterapii 13, 3.
- MANNERS D. J., MASSON A. J., PATTERSON J. C., 1973. *The structure of a β -(1 $\rightarrow$ 3)-D-glucan from yeast cell walls*. Biochem. J. 135, 19–30.
- MI S. J., SUNG E. K., YOUNG H. J., LEE M. E., KIM H. M., SANG G. P., LEE H., 2007. *Crystal structure of the TLR1-TLR2 heterodimer induced by binding of a tri-acylated lipopeptide*. Cell 130, 1071–1082.
- PALMA A. S., FEIZI T., ZHANG Y., STOLL M. D., LAWSON A. M., GORDON D. BROWN., 2006. *Ligands for the β -glucan receptor, Dectin-1, assigned using „designer,” microarrays of oligosaccharide Probes (neoglycolipids) generated from glucan polysaccharides*. J. Biol. Chem. 281, 5771–5779.
- PELIZON A. C., KANENO R., SOARES A. M., MERINA D. A., SATORI A., 2005. *Immunomodulatory activities associated with beta-glucan derived from Saccharomyces cerevisiae*. Physiol. Res. 54, 557–564.
- SADULA J., KOGAN G., KACURKOVA M., MACHOVA E., 1999. *Microbial (1 $\rightarrow$ 3)- β -D-glucans, their preparation, physico-chemical characterization and immunomodulatory activity*. Carbohydrate Polymers 38, 247–253.
- SIEJA K., 2004. *Dieta sojowa w zmniejszeniu ryzyka raka piersi*. Ginekologia Praktyczna 76, 23–28.
- SILKE C. J., ROHN S., KROCH L. W., KURZ T., 2007. *In Vitro Potential Antioxidant Activity of β -(1,3) (1,6)-D-glucan and protein fractions from Saccharomyces cerevisiae cell walls*. Agric. Food Chem. 55, 4710–4716.
- SOCZA J., STOLARCZYK A., 2002. *Prebiotyki i probiotyki jako przykład żywności funkcjonalnej*. Pediatria Współczesna. Gastroenterologia, Hepatologia i żywienie dziecka 1, 15–18.
- SROKA Z., GAMIAN A., CISOWSKI W., 2005. *Low-molecular antioxidant compounds of natural origin*. Postępy Hig. Med. Dośw. 59, 34–41.
- SZUMIAŁO J., 2005. *Protocatechuic acid in cancer prevention*. Postępy Hig. Med. Dośw. 59, 608–615.
- SZYMAŃSKA-CZERWIŃSKA M., BĘDNAREK D., 2007. *Beta-glukany alternatywą antybiotykowych stymulatorów wzrostu*. Życie Weterynaryjne 82, 842–843.
- TRAFALSKA E., GRZYBOWSKI A., 2006. *Probiotics and prebiotics in prevention of chronic civilization diseases*. New Medicine 1, 3–6.
- TSENG T. H., HSUJ D., LO M. H., CHU C. Y., CHOU F. P., HUANG C. L., WANG C. J., 1998. *Inhibitory effect of Hibiscus protocatechuic acid on tumor promotion in mouse skin*. Cancer Lett. 126, 199–207.
- TSIAPALI E., WHALEY S., KALBELEISCH J., ENSLEY H. E., BROWDER W., WILLIAMS D. L., 2001. *Glucans exhibit weak antioxidant activity, but stimulate macrophage free radical activity*. Free Rad. Biol. Med. 30, 393–402.
- VETVICKA V., YU X., YAN J., HANIKRYROVA M., MAYADAS T., GORDON D., 1999. *The β -glucan-binding Lectin site of Mouse CR3 (CD11b/CD18) and its function in generating a primed state of the Receptor that mediates cytotoxic activation in response to iC3b-opsonized target cells*. J. Immunol. 162, 2281–2290.

- WEI D., ZHANG L., WILLIAMS D. L., BROWDER W., 2002. *Glucan stimulates human dermal fibroblast collagen biosynthesis through a nuclear factor-1 dependent mechanism*. Published Online 10, 161–168.
- WOLSKA-MITASZKO B., 1985. *Metabolizm polimerów ściany komórkowej drożdży. I. Metabolizm glukanów*. Postępy Mikrobiologii 24, 187–208.
- WOLSKI T., KARWAT I. D., 2004. *Prophylaxis and therapy for the effect of incorrect nutrition*. Postępy Fitoterapii 14, 4.
- WÓJCIK R., MAŁACZEWSKA J., TRAPKOWSKA S., SIWICKI A. K., 2007. *Influence of β -1,3/1,6-D-glucan on non-specific cellular defense mechanisms in lambs*. Med. Vet. 63, 84–86.
- YADAV M., SCHOREY J. S., 2006. *The beta-glucan receptor dectin-1 functions together with TLR2 to mediate macrophage activation by mycobacteria*. Blood 108, 3168–3176.