Využití betaglukanů a materiálů na nich založených v medicíně

Michaela Kolářová

Bakalářská práce
2023

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	**Michaela Kolářová**
Osobní číslo:	**T20409**
Studijní program:	**B0711A130009 Materiály a technologie**
Specializace:	**Biomateriály a kosmetika**
Forma studia:	**Prezenční**
Téma práce:	**Využití betaglukanů a materiálů na nich založených v medicíně**

Zásady pro vypracování

Betaglukany jsou přírodní polysacharidy složené z jednotek glukózy spojených beta-glykosidickými vazbami. Jsou přirozenou součástí buněčných stěn hub, kvasinek, ale také třeba cereálií. Mají unikátní schopnost stimulovat imunitní systém a působit tak proti řadě onemocnění včetně nádorových.
Náplní práce bude zpracování literární rešerše na téma využití betaglukanů a materiálů na nich založených v imunoterapii a v léčbě nádorových chorob, se zvláštním zaměřením na roli beta(1-3)glukanů s beta(1-6) rozvětvením, jako je skleroglukan a schizophillan. Bude popsána struktura, vlastnosti a také modifikace těchto látek s unikátní trojšroubovicovou strukturou. Dále bude věnována pozornost jejich schopnosti inkorporovat řetězce DNA a chránit je na jejich cestě organismem.

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

[1] de Graaff, P.; Govers, C.; Wichers, H. J.; Debets, R. Consumption of β-Glucans to Spice up T Cell Treatment of Tumors: A Review. *Expert Opinion on Biological Therapy* **2018**, *18* (10), 1023–1040. https://doi.org/10.1080/14712598.2018.1523392.
[2] Wang, Q.; Sheng, X.; Shi, A.; Hu, H.; Yang, Y.; Liu, L.; Fei, L.; Liu, H. β-Glucans: Relationships between Modification, Conformation and Functional Activities. *Molecules* **2017**, *22* (2), 257. https://doi.org/10.3390/molecules22020257.
[3] Han, B.; Baruah, K.; Cox, E.; Vanrompay, D.; Bossier, P. Structure-Functional Activity Relationship of β--Glucans From the Perspective of Immunomodulation: A Mini-Review. *Front Immunol* **2020**, *11*, 658. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00658.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Jan Vícha, Ph.D.**
Centrum polymerních systémů

Datum zadání bakalářské práce: **1. února 2023**
Termín odevzdání bakalářské práce: **19. května 2023**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORA
BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

…….
podpis studenta

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá β-glukany, které se, díky svým pozitivním účinkům na lidské zdraví, mohou využívat v medicínských aplikacích. Formou literární rešerše představuje jejich zdroje, pozitivní vlastnosti a využití. Práce je dále konkrétně zaměřena na dva konkrétní, velice podobné β-glukany, schizophyllan a skleroglukan.

Klíčová slova: β-glukany, schizophyllan, skleroglukan, polysacharidy

ABSTRACT

This work deals with β-glucans, which due to their positive effects on human health can be used in medical applications. By means of a literature search it presents their sources, positive properties and uses. The thesis also specifically focuses on two particular, very similar β-glucans schizophyllan and scleroglucan.

Keywords: β-glucans, schizophyllan, scleroglucan, polysaccharides

Za odborné vedení mé bakalářské práce, velkou míru ochoty a trpělivosti, rychlost, lidský přístup a podnětné rady při zpracovávání práce děkuji vedoucímu práce panu Mgr. Janu Víchovi, Ph.D. Ráda bych poděkovala také mým nejbližším za obrovskou podporu a trpělivost při psaní této práce.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD **8**
I TEORETICKÁ ČÁST **9**
1 POLYSACHARIDY **10**
2 VLÁKNINA **12**
3 BETAGLUKANY **13**
3.1 β-GLUKANY Z HUB 16
3.2 MODIFIKACE β-GLUKANŮ 20
4 BIOLOGICKÁ AKTIVITA BETAGLUKANŮ **22**
4.1 IMUNOMODULAČNÍ AKTIVITA 22
4.2 PROTINÁDOROVÁ AKTIVITA 24
4.3 DALŠÍ BIOLOGICKÉ AKTIVITY 25
5 SCHIZOPHYLLAN **27**
6 SKLEROGLUKAN **30**
7 BETAGLUKANY JAKO NOSIČE OLIGONUKLEOTIDŮ **31**
ZÁVĚR **33**
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY **34**
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK **37**
SEZNAM OBRÁZKŮ **38**

ÚVOD

Lidský imunitní systém je jedním z nejvýkonnějších systémů v těle, a je třeba si uvědomit, že nežijeme ve sterilním prostředí, ale v prostředí plném mikroorganismů, virů, parazitů a bakterií. Každým nádechem nebo dotekem do těla vstupují miliony potenciálně nebezpečných organismů. Z tohoto důvodu se během milionů let vyvinul imunitní systém. Lidské tělo je tedy v neustálém boji, ve kterém obranný systém složený z makrofágů dalších buněk, bojuje proti všudypřítomným bakteriím a patogenům. Správně fungující imunitní systém jednoduše rozpozná cizorodé předměty, ať už jsou to paraziti, nebo bakterie a zničí je. Makrofágy, buňky přítomné ve všech orgánech lidského těla, posílají do boje bílé krvinky. Za normálních okolností si tedy tento imunitní systém s neustálým útokem poradí, právě díky buňkám jako jsou makrofágy, které neustále cirkulují tělem a tyto cizorodé organismy rozpoznávají a likvidují. Ty ale nezvládnou všechno a opakující se nemoci nebo chronické infekce je vyčerpávají stejně, jako je vyčerpaný celý organismus.

Právě zde se nachází ideální uplatnění pro β-glukany, unikátní komplexní přírodní polysacharidy, schopné podporovat obranyschopnost proti bakteriálním a parazitárním chorobám. Polysacharidy jsou neodmyslitelnou součástí lidské potravy a jsou také mimo jiné složkou vlákniny, která se dále dělí na vlákninu rozpustnou a nerozpustnou. Právě k nerozpustné vláknině, řadíme β-glukany. Přesto, že si β-glukany získaly pozornost vědců teprve v polovině minulého století, byly o nich napsány a provedeny tisíce studií. První zmínky o účincích β-glukanů jsou více než 60 let staré a v posledních, asi 20 letech se řadí k nejvíce studovaným imunomodulátorům. Výzkumy prokazují že nezáleží na původu β-glukanů, ať už jsou z kvasinek, hub, obilí nebo mořských řas, záleží hlavně na chemickém složení, čistotě a podaném množství. β-glukany mají ale i další účinky. Dnes je téměř nemožné úplně se vyhnout mírnému ozáření, ať už z odrazu obrazovky počítače, častého cestování letadlem nebo rentgenu u lékaře. β-glukany aktivují makrofágy, které odstraní buňky poškozené radiací. Dále výrazně podporují krvetvorbu a je potřeba zmínit role β-glukanů při snižování hladiny cholesterolu a udržování hladiny cukru v krvi. V neposlední řadě prokazují hojivé účinky u pacientů v pooperačních stavech a výrazně snižují riziko úmrtí na sepsi. Právě β-glukanům a jejich účinkům se věnuje tato práce.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 POLYSACHARIDY

Polysacharidy jsou vysokomolekulární substance, složené z několika desítek, stovek až tisíců sacharidových jednotek. Tyto jednotky jsou převážně pyranosové nebo furanózové, spojené glykosidickou vazbou vznikající kondenzací mezi –OH skupinami sacharidů. Glykosidická vazba je vazba vytvořena mezi molekulou sacharidu a jinou molekulou, kdy se hydroxylová skupina sacharidu spojí s vodíkem jiné molekuly a uvolní molekulu vody, čímž vzniká kovalentní vazba. Glykosidické vazby mohou být typu α nebo β. α-glykosidická vazba vzniká, když mají oba uhlíky stejnou orientaci –OH skupiny vzhledem k rovině sacharidového kruhu a β naopak když je orientace –OH skupin dvou uhlíků, mezi kterými vzniká vazba, opačná. Ve volné přírodě se polysacharidy nejčastěji vyskytují jako směsi s jinými látkami a často lišící se molekulovou hmotností [1]. Polysacharidy složené z více jednotek jednoho sacharidu se pak nazývají homopolysacharidy, a ty složené z molekul více než jednoho sacharidu se nazývají heteropolysacharidy. Polysacharidy jsou většinou nerozpustné ve vodě, ale z některých lze v horké vodě připravit gely či koloidní roztoky [2].

Homopolysacharidy, které jsou tvořeny monosacharidovými jednotkami glukózy, jsou také nazývány jako glukany. Řadí se mezi ně zásobní polysacharid rostlin škrob, ve své podstatě směs amylosy a amylopektinu, v přírodě vyskytující se v podobě granulek, glykogen, živočišný zásobní polysacharid, a celulóza, nejčastěji vyskytující se polysacharid v přírodě, hlavní stavební materiál buněčných stěn některých bakterií a vyšších rostlin [2].

Polysacharidy mají také různý fyziologický význam. Mohou plnit funkci zásobních látek jako např. škrob nebo glykogen, být součástí stavebních a podpůrných struktur organismu jako je např. celulóza nebo chitin, plnit funkci fyziologicky aktivních látek např. heparin nebo polysacharidy krevních skupin [3].

Polysacharidy s dlouhými řetězci obsahující opakující se sacharidové jednotky jsou považovány za jedny z nejdůležitějších biopolymerů, díky jejich biologické aktivitě, mezi které patří posílení imunity, hojení ran, antivirové, protizánětlivé a protinádorové účinky. Konformace polysacharidů v roztoku mohou být např. náhodné uspořádání, jednoduchá šroubovice, dvojšroubovice, trojšroubovice, červovitá struktura nebo tyčinkovitý tvar a agregát. Struktura, konformace, intramolekulární a mezimolekulární síly a jejich změny mohou ovlivňovat biologickou aktivitu polysacharidů [4]. Polysacharidy mohou také nahradit nedegradovatelné polymery [5].

Ojedinělé vlastnosti mají intracelulární a extracelulární polysacharidy, které jsou produkovány některými plísněmi, kvasinkami a vyššími houbami. Jejich antibakteriální, antikoagulační, antivirové a hlavně antikarcinogenní účinky se využívají ve farmacii a medicíně [6].

2 VLÁKNINA

Vláknina tvoří významnou složku potravy, ale zároveň není štěpitelná enzymy gastrointestinálního traktu člověka. Vláknina se skládá z polysacharidů, oligosacharidů, ligninu a dalších rostlinných složek. V potravě rostlinného původu se nachází vláknina v různých formách. Rozděluje se na vlákninu nerozpustnou ve vodě a rozpustnou ve vodě [7]. Mezi rozpustnou vlákninu řadíme hlavně pektiny, inulin a slizy. Rozpustná vláknina reguluje digesci a absorpci sacharidů, tuků a cholesterolů v tenkém střevě. Rozpustná vláknina zvyšuje viskozitu žaludečního a střevního obsahu, zpomaluje jeho promíchávání a omezuje přístup enzymům, čímž zpomaluje štěpení potravy a vstřebávání stěnou střev. Zdrojem rozpustné vlákniny je ovoce a zelenina [6].

K nerozpustné vláknině řadíme hemicelulózu, lignin, celulózu, chitin a chitosan. Nerozpustná vláknina funguje jako prevence zubního kazu. V žaludku způsobuje pocit sytosti. Ve střevech zase zvětšuje střevní obsah, upravuje rychlost průchodu trávené potravy a působí proti zácpě. Z vlákniny, která se dostane až do tlustého střeva vznikají v důsledku aktivity střevní mikrobioty mastné kyseliny s krátkým řetězcem, kyselina máselná, propionová i octová, doprovázené tvorbou vodíku, oxidu uhličitého a methanu. Tímto způsobem může být metabolizováno až 75% potravní vlákniny procházející tlustým střevem [6]. Zdrojem vlákniny nerozpustné ve vodě může být rýže, celozrnné těstoviny, celozrnné pečivo, müsli, luštěniny nebo lněné semínko [7].

Vláknina je dostupná v potravě, v řadě potravinářských výrobků a surovin a přirozeně se vyskytuje ve všech rostlinách. Typ půdy, odrůda rostlin, klima, doba skladování a další, jsou faktory ovlivňující obsah vlákniny[6].

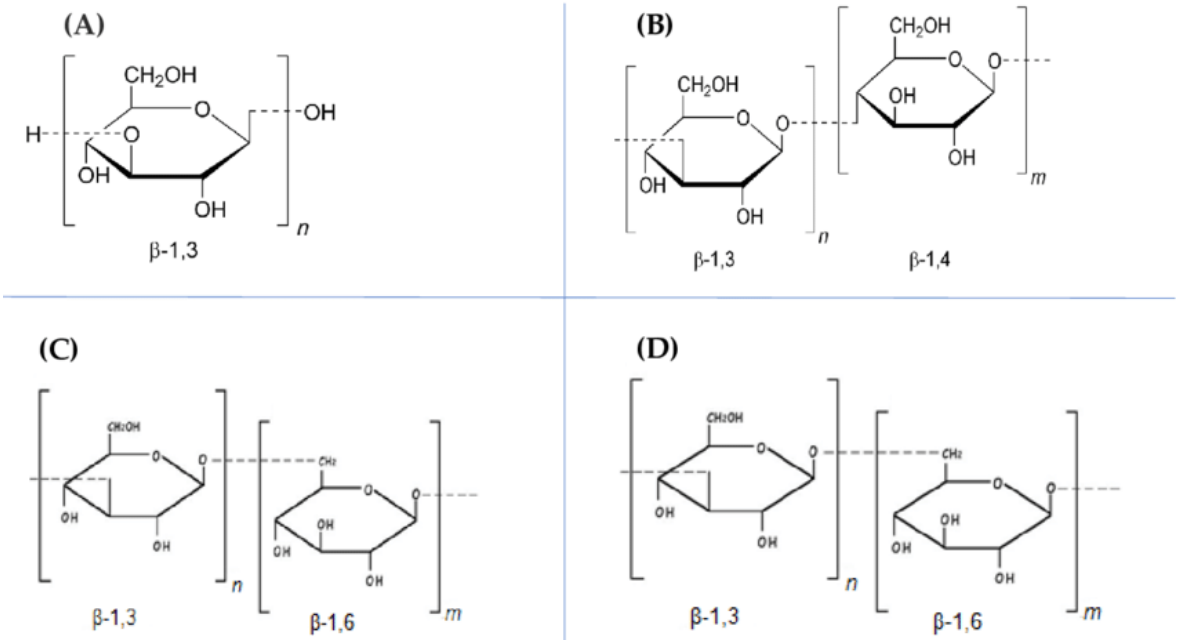
3 BETAGLUKANY

Konzumace vlákniny je spojena s prevencí několika chronických kardiometabolických onemocnění, včetně diabetu II. typu a kardiovaskulárních onemocnění. Z tohoto důvodu mají celosvětová dietní doporučení tendenci zahrnovat vysoký příjem vlákniny, 25 až 38 g vlákniny pro dospělého člověka za den. Avšak, tato doporučení nezahrnují konkrétně o kterém typu vlákniny tento doporučený denní příjem hovoří. V lidské stravě existuje mnoho zdrojů vlákniny jako jsou obilná zrna, ořechy, semena, zelenina, ovoce nebo luštěniny a jejich fyzikálně-chemické vlastnosti se od sebe značně liší. Právě mezi zdroji vlákniny se ukázalo, že cereální β-glukany jsou jedním z nejefektivnějších typů vlákniny při prevenci diabetu II. typu a kardiovaskulárních onemocnění. Tento účinek je pravděpodobně zapříčiněn jejich schopností účinně snižovat postprandiální glukózovou odpověď a dlouhodobě zlepšovat hladinu cholesterolu v krvi, což je u kardiovaskulárních onemocnění známý velmi rizikový faktor. Obilné β-glukany jsou přirozeně obsaženy v žitu s obsahem 2,5%, ovsu a také ječmeni s obsahem β-glukanů až 4,5% [8].

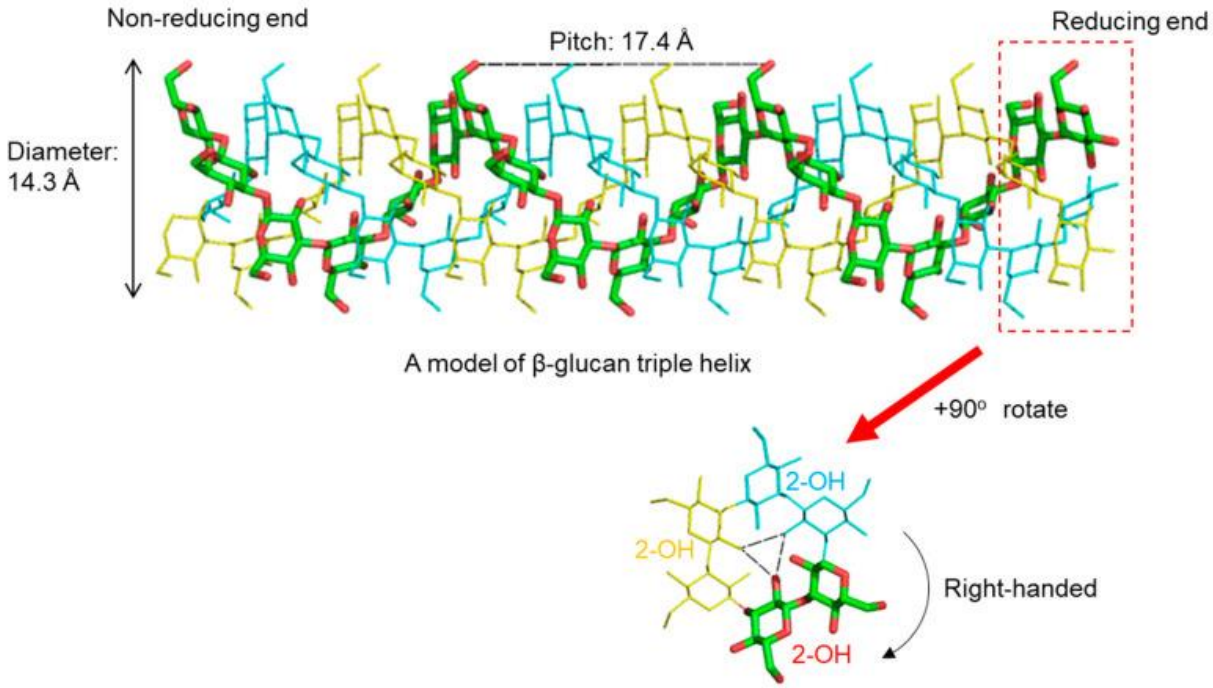
Obecně platí, že východní civilizace mají dlouholetou tradici ve sbírání nejrůznějších hub, což vedlo k izolaci glukanů v Japonsku a Číně především z hub. Naopak západní civilizace izolují glukany převážně z pekařských kvasnic, vzhledem k tradici vaření piva a pečení chleba [32].

Strukturní necelulózové polysacharidy buněčných stěn rostlin, vyplňující prostor mezi celulózovými vlákny se nazývají hemicelulózy. Hemicelulózy dělíme na heteroglukany a heteroxylany. Heteroglukany se dále rozlišují na xyloglukany a β-glukany [7]. β-glukany jsou polysacharidy s dlouhým řetězcem, obsahující jedinou stavební jednotku, glukózu, spojenou pomocí β-glykosidických vazeb. β-glukany se vyskytují v buněčných stěnách vyšších rostlin, semenech některých obilovin, kvasinkách, houbách a řasách [6].

Bylo zjištěno že základní struktury β-glukanů z jiných zdrojů jsou skoro stejné, ale často vykazují jinou bioaktivitu, která se mění na základě konformace či sekundární struktury. Hlavní řetězce β-glukanů jsou tvořeny jednotkami glukózy vázaných pomocí β-(1→3) a β-(1→6) glykosidických vazeb. Z hlavního řetězce se pomocí β-(1→6), β-(1→3) a β-(1→4) vazeb větví kratší postranní řetězce. Terciální struktura je tvořena jejich rozložením a délkou řetězce, a je stabilizovaná meziřetězcovými vodíkovými vazbami. β-glukany rozvětvující se z delšího β-1,3 glukanového řetězce, obsahující postranní β-1,6 řetězce jsou nejaktivnější formou [7].



Obrázek 1–Chemická struktura β-glukanů z různých zdrojů.[1] A–β-glukan z bakterií, B–β-glukan z obilovnin nebo lišejníků, C–β-glukan z některých možských řas, D–β-glukan z hub a kvasinek. [1]



Obrázek 2–Model pravotočivé trojšroubovice β(1,3) -glukanu [2].

Vysoká molekulová hmotnost a viskozita β-glukanů mají za následek jeho hypoglykemické a hypocholesterolemické vlastnosti[9]. β-glukany dále zaujímají přední

postavení jako imunomodulátory, díky jejich imunomodulačním účinkům, které mají potenciál v léčbě nádorových onemocnění [10]. β-glukany s rozvětvenými řetězci a velkou molekulovou hmotností mají nejvyšší imunomodulační aktivitu díky větší šanci interagovat s více receptory, což vede k zvýšení proliferace a diferenciace imunitních buněk a cytokinezi interferonů, interleukinů [4]. Pro imunomodulační schopnosti β-glukanů jsou rovněž rozhodující frekvence větvení a délka postranního řetězce. β-glukany jen s jednou molekulou glukózy v postranním řetězci mají nižší schopnost aktivovat makrofágy než glukany s větším množstvím glukózy v postranním řetězci. Existují však výjimky, jako například schizophyllan a skleroglukan [11]. Je také známo, že polysacharidy se strukturou β-helixu mají obvykle vyšší biologickou aktivitu, naopak polysacharidy s náhodnou strukturou mají biologickou aktivitu nižší. Například lentilan má významnou protinádorovou aktivitu, ale po změně struktury tato aktivita významně poklesne [4].

Protirakovinové vlastnosti polysacharidů závisí na:

- Složení polysacharidu – protirakovinové vlastnosti byly objeveny u hetero-β-glukanů, heteroglykanů, komplexů β-glukan-protein, komplexů α-glukan-protein, α-mano-β-glukanů atd.
- Molekulové hmotnosti – glukany s nižší molekulovou hmotností vykazují nižší účinnost než v případě glukanů s vysokou molekulovou hmotností
- Glykosidické vazbě – strukturní rysy jako β-(1→3) vazby v hlavním řetězci a další β-(1→6) větvení jsou potřebné pro přítomnost protirakovinné aktivity
- Terciální struktuře – destrukce terciální struktury polysacharidů denaturací výrazně snižuje nebo docela ruší jejich biologickou aktivitu
- Přítomnosti dalších ligandů – např. manóza, xylóza, galaktóza, arabinóza nebo fruktóza pozitivně ovlivňují protirakovinové vlastnosti
- Chemické modifikaci – která je prováděna za účelem zlepšení protirakovinové aktivity a klinických vlastností polysacharidů [9].

Nejčastěji jsou β-glukany získávány z buněčných stěn hub, ovšem v přírodě se β-glukany vyskytují v různých zdrojích, jako například obiloviny, některé bakterie nebo mořské řasy [6].

3.1 β-glukany z hub

Zdravotní přínosy konzumace hub jsou známy již tisíce let. V zemích dálného východu (Japonsko, Korea, Čína) se výrobky z hub používají jako doplňky stravy nebo léky již více než 2000 let. V posledních letech se však houby staly středem pozornosti hlavně jako zdroj biologicky aktivních látek s příznivým vlivem na fungování lidského organismu. Je dobře známo, že houby obsahují širokou škálu biomolekul s nutričními a léčivými vlastnostmi [12].

Protirakovinné vlastnosti biologicky aktivních sloučenin pocházejících z hub patří většinou právě polysacharidům, jejichž hlavním zdrojem jsou buněčné stěny hub [13]. Buněčná stěna většiny hub je složena z chitinu, glykoproteinů a β-glukanů [6]. Právě β-glukany byly identifikovány jako jedny z hlavních aktivních složek hub [12] a patří k nejvíce prozkoumaným účinným látkám hub. Polysacharidy pocházející z hub jsou obecně vysoce komplexní molekuly s variacemi ve složení monosacharidů, konformací a délce hlavního řetězce [14]. Zvířata a lidé jsou schopni trávit pouze jednoduché sacharidy jako zdroj energie, zatímco komplexní sacharidy, jako je celulóza, lignin a β-glukany se dostávají až do tlustého střeva. Polysacharidy hub po vstupu do střevního traktu degradují a mění mikrobiální složení a střevní prostředí. Polysacharidy snižují pH, což je příznivé pro růst a proliferaci prospěšných bakterií [14].

Mezi nejvýznamnější a nejprobádanější houby, které obsahují β-glukany patří např. houževnatec jedlý neboli shiitake *(Lentilus edodes),* který je pěstován už přes 2000 let. Jde o houbu pocházející z Číny, odkud se rozšířil do Japonska. (Obr. 3) Tato dřevokazná houba rostoucí na habrech a dubech, je v poslední době často vyhledávaná. Jeho umělé pěstování je už mnoha set letou tradicí. Léčivé účinky této houby způsobuje β-glukan lentilan se stukturou $\beta-(1\rightarrow 3)$ a s $\beta-(1\rightarrow 6)$ postranními řetězci a molekulovou hmotností přibližně 500kDa. Z 200 kg čerstvých plodnic se získá pouze 31g čistého lentilanu [6,] [7].

Obrázek 3 – Houževnatec jedlý neboli shiitake (*Lentilus edodes)* [3]

Mezi další zajímavé zdroje β-glukanů patří také také trsnatec lupenitý neboli maitake *(Grifola frondosa)* (Obr. 4) obsahující β-glukan grifolan, o molekulové hmotnosti přibližně 500 kDa, složen z β–$(1 \rightarrow 6)-$ glukanových postranních řetězců a $\beta-(1 \rightarrow 3)-\mathrm{D}-$ glukanové kostry, který se také díky svým účinkům používá v Japonsku, v dávkování 3-5krát denně 3-7 gramů, jako doplněk stravy [6].

Obrázek 4 –Trsnatec lupenitý neboli maitake (*Grifola frondosa*) [4]

Klanolístka obecná *(Schizophyllum commune)* produkující schizophyllan, se využívá k prevenci a léčbě nádorových onemocnění a leukémii zejména v Japonsku v oblastech výbuchů atomových bomb na konci 2. světové války (Obr.5) [6].

Obrázek 5 – Klanolístka obecná (*Schizophyllum commune*) [5]

Mezi další houby s obsahem β-glukanů se dále řadí i žampión mandlový (*Agaricus brasiliensis*), původem z Brazílie, pěstovaný v České republice od roku 2003. Téměř ve všech vegetačních pásmech se vyskytuje hlíva ústřičná (*Pleurotus ostreatus*) obsahující pleuran, β-glukan s imunomodulačními účinky [7].

Obrázek 6- Žampión mandlový (*Agracius brasiliensis*) [6]

Obrázek 7- Hlíva ústřičná (*Pleurotus ostreatus*) [7]

3.2 Modifikace β-glukanů

Pomocí chemických, fyzikálních nebo dokonce enzymatických modifikací se dá měnit molekulární struktura β-glukanů [9]. Modifikace může významně ovlivnit primární strukturu a prostorovou orientaci β-glukanů [4].

Fyzikální modifikace ovlivňuje konformaci β-glukanu změnou jeho prostorové struktury, chemická modifikace zase může zavést substituenty na hlavní nebo postranní řetězce, čímž změnit jak primární, tak prostorovou strukturu [4].

Mezi fyzikální metody patří modifikace pomocí ultrazvukových vln, γ paprsky, elektronového nebo rentgenového záření [4].

Při ultrazvukové modifikaci mohou ultrazvukové vlny způsobit degradaci molekulárních řetězců β-glukanů rozbitím glykosidických vazeb a spuštěním oxidačně-redukční reakce volných radikálů, čímž vzniknou frakce β-glukanů s nižší molekulovou hmotností. Ty vykazují lepší rozpustnost ve vodě a zlepšenou fyziologickou funkci. β-glukany mohou být modifikovány také ozařováním γ paprsky, rentgenovým zářením anebo elektronovým paprskem. Průměrná molekulová hmotnost vzorků výrazně klesala s rostoucí dávkou ozáření γ paprsky. Oblíbenou metodou ke změně konformace je modifikace pomocí mikrovln. Energie mikrovln může zvýšit natažení molekulárního řetězce a ovlivnit tak fyzikální a chemické vlastnosti β-glukanů. Vysokotlaká mikrofluidizace je další nová fyzikální metoda používaná při modifikaci β-glukanů. Tato metoda by mohla snížit molekulovou hmotnost, měnit mikrosktrukturu a zvýšit rozpustnost a hydroskopické vlastnosti [4].

Mezi chemické modifikace patří karboxymethylace, sulfatace nebo také fosforylace. Obecně jsou karboxymethylované β-glukany více rozpustné ve vodě a vykazují větší in vivo i in vitro protinádorovou aktivitu než β-glukany, které nebyly modifikované. Je pravděpodobné, že flexibilnější řetězce těchto karboxymethylovaných β-glukanů jsou zodpovědné za jejich protinádorovou aktivitu. Flexibilita hlavního řetězce polysacharidů je dána vodíkovými vazbami a elektrostatickými odpudivými silami. Po modifikaci, jako je karboxymethylace nebo sulfatace, může být flexibilita hlavního řetězce zvýšena, a to může vést ke zlepšení biologické aktivity. Řetězec s menší tuhostí se totiž může snadněji vázat na receptory na buněčném povrchu, čímž vykazuje vyšší biologickou aktivitu. Roztažnost řetězce závisí na stupni substituce a typu substituentů [4].

Sulfátované β-glukany se lépe rozpouštějí ve vodě, mají antikoalugační, antitrombotické a protirakovinové účinky. Dále aktivují makrofágy, stimulují kostní dřeň a modifikují průběh experimentálních infekčních onemocnění. Ku příkladu nemodifikovaný β-glukan kurdlan nevykazuje protinádorovou ani antibakteriální biologickou aktivitu díky absenci vedlejších řetězců, zatímco kurdlan podrobený sulfatační modifikaci, může inhibovat virus lidské imunodeficience (HIV-1) u H9 buněk, díky rozdílné konformaci. Fosforylované modifikace prokázaly značné protinádorové účinky *in vivo* i *in vitro* proti nádorovým buňkám sarkomu 180. To poukazuje na fakt, že zvýšená rozpustnost a prodloužení řetězců zlepšuje protinádorové účinky β-glukanů. Sulfatované a fosfatované polysacharidy také vykazují výraznou inhibici nádorových buněk H-22, přičemž sulfatované modifikace vykazovaly větší aktivitu *in vitro* a fosfátované zase větší aktivitu *in vivo* [4].

4 BIOLOGICKÁ AKTIVITA BETAGLUKANŮ

β-glukany vykazují pozoruhodné fyziologické účinky, což je důvod proč jim bylo věnováno tolik pozornosti. Jak už bylo uvedeno, β-glukany stimulují imunitní systém, příznivě účinkují v boji proti infekčním bakteriálním, virovým či plísňovým onemocněním a používají se jako součást protizánětlivé či protinádorové terapie a také jako prevence onemocnění [15].

4.1 Imunomodulační aktivita

β-glukany patří do skupiny fyziologicky aktivních sloučenin, nazývaných modifikátory biologické odezvy, a podle jejich účinku je lze rozdělit do dvou skupin – cytokiny, zodpovídající za regulaci a komunikaci mezi buňkami imunitního systému, a imunomodulátory. Ty jsou schopny pozitivně nebo negativně ovlivňovat imunitní systém. Známé imunomodulátory lze rozdělit do tří skupin:

1. Mikroby, houby, rostliny a složky jejich buněk
2. Přirozené složky normálního imunitního systému
3. Syntetické sloučeniny

Mezi velké množství známých imunomodulátorů první skupiny patří polysacharidy izolované z různých rostlin a mikroorganismů a mezi ně právě také β-glukany z hub, kvasinek a mořských řas. Na rozdíl od ostatních přírodních produktů si purifikované β-glukany zachovávají svou biologickou aktivitu, což napomáhá studiu funkce β-glukanů na buněčné a molekulární úrovni [16].

Předběžné podání β-glukanů vede k vytvoření vrozené imunitní paměti, definované jako zvýšená reakce na sekundární infekci. Mechanismus působení β-glukanů spočívá v tom, že jsou tělem rozpoznány pomocí různých receptorů jako cizí látky a svou přítomností tedy stimulují imunitní systém [11].

β-glukan užívaný perorálně je odolný vůči kyselinám, tudíž prochází žaludkem prakticky beze změny. Ve výstelce střevní stěny zachycují makrofágy a další buňky částice β-glukanu pomocí β-glukanových receptorů. Následuje okamžitá aktivace buněk, které jsou později schopny cestovat zpět do lymfatických uzlin a v rámci své přirozené funkce uvolňující cytokiny k navození imunitní aktivace.

Injekčně podávané β-glukany stimulují imunitní systém zvyšováním hladin látek zabraňujících infekci v krvi[17]. Kromě cytokinových odpovědí vykazují β-glukany také modulační aktivitu na T-buňky a B-buňky a typy produkce imunoglobulinů [14], [18].

Imunomodulační aktivita β-glukanů byla desítky let studována a výzkumy byly zaměřeny hlavně na jejich vliv na sekreci cytokinů a funkční změny imunitních buněk. Mezi receptory, které byly identifikovány pro interakci s β-glukany patří: dektin-1, nacházející se na makrofázích, který zajišťuje β-glukanovou aktivaci fagocytózy a produkci cytokinů, kterou koordinuje Toll-like receptor-2 – (TLR-2). Tzv. scavenger receptor a laktosylceramid jsou další dva receptory, které zprostředkovávají řadu signálních drah vedoucích k aktivaci imunitního systému. V závislosti na struktuře β-glukanu se afinita k těmto receptorům mění, což má za následek odlišné reakce hostitele [19].

Nejvýraznější účinek β-glukanů spočívá v posílení fagocytózy a proliferace fagocytů – granulocytů, monocytů, makrofágů a dendritických buněk. Mezi těmito hrají makrofágy nejdůležitější roli v obraně hostitele proti bakteriím, virům, mnohobuněčným parazitům a nádorovým buňkám, neboť jsou považovány za základní efektorové buňky. Makrofágy jsou složkou nespecifického imunitního systému, který se skládá kromě fagocytů také z komplikované skupiny sérových proteinů a dalších rozpustných rozpoznávacích a efektorových molekul. Pro farmakologický účinek β-glukanů je důležité, že aktivované makrofágy nepůsobí pouze proti aktivátoru, ale i proti jakémukoli přítomnému antigenu, mikroorganismu nebo nádorové buňce. Tento vrozený imunitní systém spočívá na neklonálních receptorech pro rozpoznávání struktur PRR (z anglického pattern recognition receptors). Ty, které rozpoznají určité molekuly na povrchu invazních mikroorganismů, jsou nazývány jako povrchové molekulární struktury patogenních mikroorganismů (pathogen-associated mollecular patterns, PAMP). Substráty aktivující PAMP se liší od hostitelských molekul a patří mezi ně různé biopolymery, včetně β-glukanů. Makrofágy dokáží rozpoznat PAMP pomocí různých receptorů. Pro rozpoznání β-glukanů mají k dispozici několik receptorů. Kromě již zmíněných TLR-2 (toll-like receptor 2) a dektin-1, také CR3 (Complement receptor 3), laktosylceramid a pravděpodobně i další. Receptory nejsou příliš specifické a detekují několik různých PAMP. Toll-like receptory (TLR) představují jedny z nejdůležitějších receptorových molekul imunitního systému. Jsou to typické PRR, které společně s PAMP usnadňují aktivaci imunitního systému u obratlovců. Dektin-1 se nachází na povrchu makrofágů a podílí se na detekci a fagocytóze houbových patogenů. Je to také transmembránový protein s mnoha funkcemi, mezi které patří vychytávání a zabíjení

napadajících buněk a indukce produkce cytokinů a chemokinů. V určitých případech spolupracuje s TLR-2[16].

Aktivita β-glukanových receptorů je vysoce závislá na typech imunitních buněk. Modulace neutrofilů β-glukanem je převážně závislá na receptoru CR3, zatím co dektin-1 je nejdůležitějším β-glukanovým receptorem na makrofázích a slouží pro jejich fagocytózu. Tato dráha je považována za zásadní pro aktivaci těchto vrozených imunitních buněk, což vede k reakci T-buněk[11].

Délka postranního řetězce a frekvence větvení rovněž rozhodují o imunomodulační schopnosti β-glukanů. β-glukany s jednou molekulou glukózy v postranním řetězci měly nižší schopnost aktivovat makrofágy než glukany s větším množstvím glukózy v postranním řetězci. β-glukany s poměrem větvení mezi 0,2-0,33 jsou nejúčinnějšími imunomodulátory. β-glukany s délkou hlavního řetězce pod sedm glukózových jednotek se nemůžou vázat na dektin-1, a rozpustné β-glukany nemohou iniciovat shlukování dektinu-1 a následně nemohou aktivovat receptor. Jsou ale schopny vázat se na CR3 a podporovat humorální imunitní odpověď. Rozpustné i nerozpustné β-glukany jsou tedy schopny podporovat imunitní reakce, ale i přesto se očekává, že aktivita β-glukanů směrem k produkci chemo-atraktantů a potencionálně k buněčné odpovědi, je více spojována s nerozpustnými β-glukany. Nedá se vyloučit, že k pozorovaným účinkům přispívají také další fyzikálně-chemické vlastnosti β-glukanů, jako jsou struktury vyšších řádů [11], [20].

4.2 Protinádorová aktivita

Protinádorová aktivita β-glukanů souvisí s jejich aktivací imunitního systému (nepřímé působení), ale β-glukany také působí přímo na nádorové buňky. Nepřímé působení je založeno na stimulaci obranných mechanismů hostitele, především na aktivaci makrofágů, T a B lymfocytů a „natural killer“ buněk. Mnoho houbových β-glukanů má stimulující účinky na produkci interleukinů, interferonů a dalších cytokinů, které jsou považovány za první linii v obranném systému hostitele a samy mohou transformovat buňky před vytvořením imunitní odpovědi. β-glukany zpomalují růst nádoru, což opět souvisí s účinky krevních antigenů a zvýšenými počty a aktivitou „natural killer“ buněk a CD4+ a CD8+ T buněk v nádorech[21]. β-glukany indikují odpověď těla vazbou na membránové receptory na imunologicky kompetentních buňkách. Receptor CR3 na povrchu imunitních efektorových buněk, jako jsou neutrofily, makrofágy, NK buňky a K buňky je schopen rozpoznat opsonin iC3b, vyskytující se na povrchu rakovinných buněk. Napojení

komplementu iC3b na receptor CR3 v přítomnosti β-glukanu, indikuje stimulaci aktivity fagocytů vůči nádorovým buňkám, zatímco nedostatek některé z těchto složek brání indukci cytotoxicity [14].

Kromě nepřímého působení pomocí aktivace imunitního systému mají β-glukany také přímý vliv na rakovinné buňky, kdy inhibují proliferaci nádorových buněk nebo indukují jejich smrt apoptózou. U mnoha typů rakoviny je pozorována nadměrná aktivace skupiny heterodimerních transkripčních faktorů NF-κβ, hrající důležitou roli při určování přežití buněk během imunitních, zánětlivých a stresových reakcí, což podporuje růst nádoru zvýšením transkripce genů indukujících buněčnou proliferaci, inhibujících apoptózu nebo podporujících angiogenezi a metastázy. β-glukany tedy inhibují NF-κβ, což brání aktivaci transkripčního faktoru a následně tak expresi jeho podřízených genů. Kromě modulace dráhy NF-κβ mohou polysacharidy ovlivnit rakovinné buňky také jinými způsoby. Například procesem indukce zástavy buněčného cyklu v restriktivních bodech G1/S a G2/M v leukemických buňkách U-937 a buňkách rakoviny prsu MDA-MB-231 a inhibicí antiapoptických proteinů, což vede k potlačení buněčného dělení a zvýšení apoptózy [13], [22].

Někdy se β-glukany také podávají subkutánně k léčbě a zmenšení kožních nádorů, vzniklých v důsledku rakoviny, která se rozšířila[17].

4.3 Další biologické aktivity

Kardiovaskulární onemocnění související se zvýšenou hladinou cholesterolu v krvi jsou nejčastější příčinou úmrtí u lidí v západních zemích světa. β-glukany z kvasinek by měly být účinné při snižování koncentrace cholesterolu v krvi[19]. β-glukany snižují nežádoucí účinky chemoterapie a zvyšují kvalitu života. Dále zvyšují frekvence a aktivity krevních antigenů jako jsou např. monocyty, lymfocyty a neutrofily. Aktivita makrofágů hraje klíčovou roli při hojení ran po operaci nebo úrazu. Ve studiích přinesla terapie β-glukanem zlepšení ve formě méně infekcí, snížené úmrtnosti nebo větší pevnost jizvy. β-glukany se používají při nachlazení, chřipce, hepatitidě, lymské borelióze, Crohnově chorobě, revmatoidní artritidě a roztroušené skleróze. Také k posílení imunitního systému u lidí s HIV/AIDS a souvisejícími stavy. Obecně ale platí, že účinky β-glukanů nejsou tolik prozkoumané vzhledem k nerozpustnosti komerčních β-glukanů. Při přímé aplikaci na rány významně zlepšili hojení ran u diabetických myší a potkanů. β-glukany z hub zesilují kožní

reakci vyvolanou bradykininy, což naznačuje aktivaci endotelu prostřednictvím tvorby vazoreaktantů a zvýšení citlivosti k nim. Kromě hojení ran, se β-glukany používají v kosmetických přípravcích proti oxidativnímu stresu, při zlepšování různých kožních stavů, vlhkosti a mikroreliéfu pokožky. Dlouhodobé používání β-glukanů snižuje hloubku a drsnost vrásek, což je pravděpodobně způsobeno stimulací fibroblastů a zvýšenou tvorbou kolagenu[23].

5 SCHIZOPHYLLAN

Klanolístka obecná neboli *Schizophyllum commune,* řádu *Agaricales* je drobná dřevokazná houba, napadající hlavně lípy, olše, buky a duby, a způsobující bílou hnilobu a korozivní rozpad dřeva. Plodnice klanolístky je jednoletá a klobouk bývá do 5 cm v průměru, vějířovitý. Plodnice obsahují hlavně β-glukan Schizophyllan, vlákninu, minerální látky a některé vitamíny skupiny B [24]. Schizophyllan z houby poprvé izolovali Kikumoto, Miyajima, Yoshizumi, Fujimoto a Kimura v roce 1970 [25] .

Schizophyllan je ve vodě rozpustný neiontový homoglukan, s β-(1→3) hlavním glukózovým řetězcem a s jedním β-(1→3) postranním glukózovým řetězcem vázaným na každém třetí glukózové jednotce hlavního řetězce. Opakující se jednotka schizophyllanu je tedy složena ze tří β-(1→3)-D-glukopyranosových jednotek, z nichž je k jednomu z nich připojen jeden D-glukopyranosový cyklus prostřednictvím β-(1→6) vazby. Tato struktura identická se strukturou skleroglukanu (viz Kapitola 6). Skleroglukan má oproti schizophyllanu rozmanitější distribuci větvení a molekulovou hmotnost, přesto obě látky vykazují nerozeznatelné rozdíly ve fyzikálně-chemických vlastnostech [25].

Trojitá helikální konformace schizophyllanu ve vodě byla poprvé identifikována Norisuyem a spol. [25]. Chování schizophyllanu ve vodě lze dobře popsat Yamakawovou teorií pro tuhý tyčový řetězec. Řetězec schizophyllanu má největší délku perzistence známou pro polysacharidy. Když jeho molekulová hmotnost přesáhne 500 000 Da, začíná shizophyllan vykazovat malou flexibilitu, díky vzniku trojité helikální struktury, která byla potvrzena i v pevném stavu. Vzniká svinutím tří jednotlivých 1-3 helixů stabilizovaných vodíkovými vazbami, s postranními řetězci β-(1→6)- glukózy vyčnívajícími ven. Stejně jako většina asymetrických tuhých tyčových polymerů, tvoří schizophyllan cholesterickou kapalnou krystalickou fázi, pokud je koncentrace vyšší než kritická hodnota [25].

Jsou známy dvě verze trojitých helixů schizophyllanu, trojitý helix I je uspořádanější než trojitý helix II. Liší se způsobem interakce β-glukosylových postranních skupin s molekulami vody. Existuje navržený model trojitého helixu I, ve kterém jsou postranní skupiny, nesené na stejném helikálním řetězci, spolu propojeny vodíkovými můstky s molekulami vody do helikální struktury. Vytvoří se tak tři spirály obsahující motiv postranní skupina–voda, které hrají roli vnějšího pláště, což vede k zvýšení tuhosti a průměru šroubovice schizophyllanu. Pokud se zvýší teplota, tato uspořádaná struktura se rozpadne a trojitý helix I se přemění na trojitý helix II [25].

Schizophyllan je díky svým účinků používán jako nespecifický stimulátor imunitního systému a modifikátor biologické odpovědi. Mezi jeho schopnosti se tedy řadí antineoplastické, antibakteriální, antiparazitické nebo také hepatoprotektivní a protizánětlivé účinky. Zvyšuje účinek vakcín a protinádorových onemocnění a působí proti řadě nemocí, včetně AIDS. Dále jako bioaktivní složka funkčních potravin, léčiv nebo kosmetiky [25]. Jeho použití ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu je ale omezené pro jeho vysokou viskozitou a molekulovou hmotností [26]. Charakteristické vlastnosti schizophyllanu ve vodných roztocích jako je tvorba filmu, tepelná stabilita a vysoká viskozita jej činí užitečným pro využití v biomateriálech. Může vytvářet pro kyslík nepropustné membrány chránící potraviny nebo zlepšovat regeneraci ropy [5].

Nejslibnější z jeho biologické aktivity jsou protinádorové a imunobiologické účinky. Jeho protinádorové působení je založeno na modulaci imunitní odpovědi. Protinádorové vlastnosti schizophyllanu se tak projevují pouze v přítomnosti T-buněk. Schizophyllan stimuluje produkci proteinů akutní fáze a mozkomíšního moku což vede k proliferaci makrofágů, lymfocytů a mononukleárních buněk periferní krve. Také zvyšuje produkci Th-lymfocytů a makrofágů a vyznačuje se silnou aktivací fagocytů. Zvyšuje produkci reaktivních forem kyslíku, protizánětlivých cytokinů IL-6, IL-8 a TNF-α, zvyšuje expresi CD11b a CD69L markerů na povrchu leukocytů a obnovuje mitózu buněk kostní dřeně dříve potlačenou gama zářením. Obchodní název tohoto β-glukanu je Sonifilan. Tento produkt se používá při léčbě rakoviny žaludku a krku. Navíc se podává během radioterapie kvůli svým radioprotektivním vlastnostem. [13]. Nejlepší výsledky proti radiačnímu poškození byly zjištěny při podávání schizophyllanu krátce po nebo současně s ozařováním, obnovila se mitóza buněk kostní dřeně, která byla dříve potlačovaná protinádorovými léky. U kombinovaných terapií s předléčením schizophyllanem bylo pozorováno jak výrazné prodloužení života, tak přežití a vyléčení[25].

V Japonsku byl schizophyllan registrován jako protinádorový lék pro svou velkou klinickou účinnost u pacientů s rakovinou žaludku a děložního čípku. Komatsu a kolegové byli první kdo objevili že vodný roztok schizophyllanu má protinádorovou aktivitu proti sarkomu 180. Samotný schizophyllan byl účinný proti různým alogenním a syngenním nádorům u myší a potkanů jako jsou karcinomy MM-46 a MH-134, BC-47 nádor močového měchýře, AMC-60 fibrosarkom a A-755 karcinom prsu. Ve spojení s chemoterapeutickými činidly schizophyllan inhiboval leukémii L1210, melanom B-16 a také fibrosarkom Meth-A. Vykazuje protinádorovou aktivitu jak proti pevné, tak ascitové formě sarkomu 180, stejně

jako proti pevné formě sarkomu 37, Erlichovu sarkomu, Yoshidově sarkomu a Lewisovu plicnímu sarkomu [25].

Formyl methylované a aminoethylované deriváty schizophyllanu vykazovaly zvýšené protinádorové aktivity, zvýšenou produkci nádorového regresního faktoru a také zvýšenou produkci rozpustných cytotoxických faktorů ve srovnání s nederivatizovaným schizophyllanem [25].

6 SKLEROGLUKAN

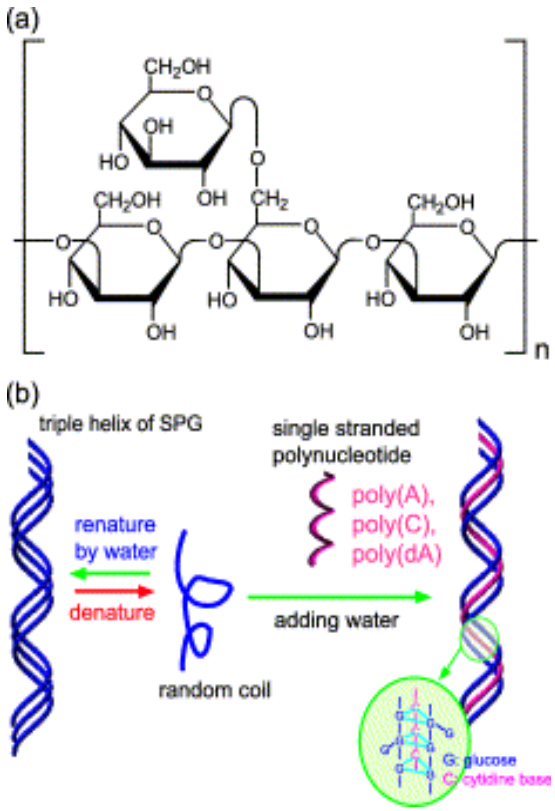
Skleroglukan je obecný termín využívaný pro označení třídy glukanů s podobnou strukturou, produkovaných houbami rodu *Sclerotium.* Je to rozvětvený homopolysacharid, sestávající z hlavního řetězce (1→3) β-D-glukopyranosových jednotek, kdy každá třetí jednotka nese jednu β-(1→6) glukopyranosovou jednotku, stupeň větvení je tedy stejný jako u schizophyllanu. Rozdíl byl mezi skleroglukanem a schizophyllanem byl pozorován v jejich nativních stavech. Skleroglukan ulpívá na myceliu jako gelovitý agregát a nemůže být dispergován v kapalné fázi, zatímco schizophyllan se v kultivačním médiu spontánně odděluje od mycelia a volně migruje do kapalné fáze[25].

Díky svým vlastnostem, jako je odolnost vůči hydrolýze, působení elektrolytů a teploty, má skleroglukan různé aplikace v průmyslu, mezi které patří využití v ropném průmyslu, výroba lepidel, tiskařských barev či kapalných krmiv pro zvířata. Ve farmaceutickém průmyslu se obecně využívá jako stabilizátor suspenzí nebo k potahování tablet a v kosmetickém průmyslu v různých přípravcích pro péči a ochranu pokožky[27]. Tento přírodní polymer stejně jako jeho oxidované nebo zesíťované deriváty, byly studovány pro možné využití k výrobě bobtnavých matric a oftalmologických přípravků pro trvalé nebo kontrolované dodávání léčiv [28].

Skleroglukan má silné imunostimulační, protinádorové, antivirové a antimikrobiální účinky stejně jako izostrukturní schizophyllan. Skleroglukan izolovaný z *Athelia rolfsii* vykazoval antibakteriální aktivitu proti grampozitivním i gramnegativním kmenům [29].

7 BETAGLUKANY JAKO NOSIČE OLIGONUKLEOTIDŮ

β-glukany, jako právě scleroglukan a schizophyllan, mají ještě jednu unikátní schopnost, která zde nebyla zmíněna, a to schopnost tvořit komplexy s oligonukleotidy či RNA. Při denaturaci těchto betaglukanů například v zásaditém prostředí totiž dochází k vratnému rozpadu trojšroubovice a tvorbě náhodných klubek. Trojšroubovici lze opět vytvořit renaturací betaglukanu např. v kyselém prostředí. Bylo zjištěno, že schizophyllan je schopen tvořit komplexy se specifickými homopolynukleotidy jako je poly(C) nebo poly(dA), pokud je tento během procesu renaturace přítomen. Vodíkové vazby se tvoří mezi glukózou a základními skupinami oligonukleotidu [30].



Obrázek 8 – a) schéma struktury schizophyllanu, b) schéma procesu tvorby komplexu [8]

Vlastnosti nově vzniklých komplexů betaglukan/oligonukleotid jsou: vysoká stabilita a rozpustnost ve vodě, tvorba vysoce uspořádané struktury, inhibice nebo redukce nespecifických interakcí mezi navázanými nukleotidy a sérovými proteiny a rozpoznání dektinem-1. Tyto vlastnosti komplexů jsou vědecky zajímavé, hlavně proto, že poskytují možnosti pro transport a přenos biologicky funkčních polynukleotidů, jako jsou AS ODN (antisense oligonukleotidy). AS ODN jsou zrcadlovou kopií malého

úseku mRNA, na kterou se mohou navázat a inhibovat tak její funkci a syntézu kódované bílkoviny. Takového systémy se proto mohou uplatnit zejména tam u nádorových onemocnění spojených s různě zmutovanými geny [30], [31].

Protože schizophyllan samotný nemá schopnost vazby na plazmatickou membránu, a vyvolání procesu endocytózy, musí se jeho řetězec podrobit modifikaci vhodnými funkčními skupinami, které mohou indukovat pohlcení nesených AS ODN. Vzhledem k tomu že je hlavní řetězec nezbytný k vytvoření komplexu, může být modifikace provedena pouze na postranních řetězcích. Funkční skupiny použity k modifikaci mohou být kationtové skupiny, specifické peptidy schopné vazby na receptory plazmatické membrány nebo peptidy odpovídající viru lidské imunodeficience. Tím dojde ke zvýšení průniku komplexu betaglukan/oligonukleotid do buněk a zesílení jeho účinku [30], [31].

ZÁVĚR

β-glukany jsou rozpustná či částečně nerozpustná složka vlákniny, která hraje nezastupitelnou roli ve výživě člověka. Jedná se o komplexní přírodní polysacharidy vyznačující se velice pozitivními účinky na lidské zdraví. β-glukanům je v posledních letech věnováno množství pozornosti hlavně díky jejich fyziologickým účinkům. A v posledních dvaceti letech patří k nejvíce studovaným imunomodulátorům. Mezi další účinky β-glukanů patří prevence a léčba rakovinových a nádorových onemocnění, radioprotektivní účinky, snížení obsahu cholesterolu v krvi, tvorba komplexů s RNA nebo léčba AIDS. Dále jsou schopny podporovat krvetvorbu a podporovat rekonvalescenci pacientů v pooperačních stavech. Zdroje β-glukanů jsou velice dostupné, nachází se například v kvasinkách, obilovinách jako je třeba ječmen nebo oves, mořských řasách a také v řadě jedlých hub. K projevení biologické aktivity ale nezáleží tolik na zdroji β-glukanů, jako na jejich pravidelném denním příjmu a chemické čistotě.

Osobně shledávám β-glukany za látky s velkým potenciálem a věřím, že se povědomí o jejich pozitivních účincích rozšíří mezi širokou veřejnost. Dnes je již možné pořídit v prodejnách potraviny se zvýšeným obsahem β-glukanů, stejně tak, jako samostatné doplňky stravy na bázi β-glukanů, a to v různých formách. Pro děti ve formě sirupu pro jednodušší konzumaci, nebo ve formě tablet či kapslí. Doufám, že se β-glukany v budoucnu stanou plnohodnotnými registrovanými léčivými látkami a budou nápomocny při léčbě onkologicky nemocných pacientů, jako je tomu již v jiných krajinách světa například v Japonsku.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] BC. LENKA DOBROVOLNÁ. *Bakteriální degradace vybraných polysacharidů* [online]. Zlín, 2006. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati. Dostupné z: https://digilib.k.utb.cz/bitstream/handle/10563/591/dobrovolná_2006_dp.pdf?sequence=1&isAllowed=y

[2] MONIKA ŠINDELKOVÁ. *Sacharidy* [online]. Brno, 2012. Dostupné z: https://is.muni.cz/th/322537/pedf_b/bakalarka_sacharidy_V2.pdf. Bakalářská práce. Masarykova Univerzita

[3] KLANICOVÁ BARBORA. *Rostlinné polysacharidy a jejich význam v potravinářském průmyslu* [online]. Brno, 2008. Dostupné z: https://dspace.vutbr.cz/xmlui/bitstream/handle/11012/10561/final-thesis.pdf?sequence=-1&isAllowed=y. Bakalářská práce. VUT Brno.

[4] WANG, Qiang, Xiaojing SHENG, Aimin SHI, Hui HU, Ying YANG, Li LIU, Ling FEI a Hongzhi LIU. β-Glucans: Relationships between Modification, Conformation and Functional Activities. *Molecules* [online]. 2017, **22**(2), 257. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules22020257

[5] SAFAEE-ARDAKANI, Mohammad Reza, Ashrafalsadat HATAMIAN-ZARMI, Seyedeh Mahdieh SADAT, Zahra Beagom MOKHTARI-HOSSEINI, Bahman EBRAHIMI-HOSSEINZADEH, Jamal RASHIDIANI a Hamid KOOSHKI. Electrospun Schizophyllan/polyvinyl alcohol blend nanofibrous scaffold as potential wound healing. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2019, **127**, 27–38. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.12.256

[6] GABRIELA JANÍRKOVÁ. *Význam beta-glukanů ve výživě člověka* [online]. Zlín, 2009. Dostupné z: http://digilib.k.utb.cz/handle/10563/9579. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati.

[7] KATEŘINA SMETANOVÁ. *Beta-glukany* [online]. Brno, 2007. Dostupné z: https://is.muni.cz/th/106798/lf_b/. Bakalářská práce. Masarykova univerzita.

[8] HENRION, Muriel, Célia FRANCEY, Kim-Anne LÊ a Lisa LAMOTHE. Cereal B-Glucans: The Impact of Processing and How It Affects Physiological Responses. *Nutrients* [online]. 2019, **11**(8), 1729. ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu11081729

[9] DU, Bin, Maninder MEENU, Hongzhi LIU a Baojun XU. A Concise Review on the Molecular Structure and Function Relationship of β-Glucan. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2019, **20**(16), 4032. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms20164032

[10] SYED HARIS, Ali. *The world of betaglucans* [online]. Tromsø, 2009 [cit. 2023-05-01]. Dostupné z: https://munin.uit.no/handle/10037/2133. Master thesis. Dept. of Pathology, University of Tromsø / University Hospital of Northern Norway.

[11] HAN, Biao, Kartik BARUAH, Eric COX, Daisy VANROMPAY a Peter BOSSIER. Structure-Functional Activity Relationship of β-Glucans From the Perspective of Immunomodulation: A Mini-Review. *Frontiers in Immunology* [online]. 2020, **11**, 658. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2020.00658

[12] ZHU, Fengmei, Bin DU, Zhaoxiang BIAN a Baojun XU. Beta-glucans from edible and medicinal mushrooms: Characteristics, physicochemical and biological activities. *Journal of Food Composition and Analysis* [online]. 2015, **41**, 165–173. ISSN 08891575. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfca.2015.01.019

[13] LEMIESZEK, Marta a Wojciech RZESKI. Anticancer properties of polysaccharides isolated from fungi of the Basidiomycetes class. *Współczesna Onkologia* [online]. 2012, **4**, 285–289. ISSN 1428-2526. Dostupné z: doi:10.5114/wo.2012.30055

[14] YU, Yue, Zhaoxi LIU, Kefeng SONG, Lunbo LI a Min CHEN. Medicinal value of

edible mushroom polysaccharides: a review. *Journal of Future Foods* [online]. 2023, **3**(1), 16–23. ISSN 27725669. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfutfo.2022.09.003
[15] BASHIR, Khawaja Muhammad a Jae-Suk CHOI. Clinical and Physiological Perspectives of β-Glucans: The Past, Present, and Future. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2017, **18**(9), 1906. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms18091906
[16] NOVAK, M. a V. VETVICKA. *β* -Glucans, History, and the Present: Immunomodulatory Aspects and Mechanisms of Action. *Journal of Immunotoxicology* [online]. 2008, **5**(1), 47–57. ISSN 1547-691X, 1547-6901. Dostupné z: doi:10.1080/15476910802019045
[17] RAHAR, Sandeep, Gaurav SWAMI, Navneet NAGPAL, ManishaA NAGPAL a GaganShah SINGH. Preparation, characterization, and biological properties of β-glucans. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research* [online]. 2011, **2**(2), 94. ISSN 2231-4040. Dostupné z: doi:10.4103/2231-4040.82953
[18] JIN, Yiming, Pingli LI a Fengshan WANG. β-glucans as potential immunoadjuvants: A review on the adjuvanticity, structure-activity relationship and receptor recognition properties. *Vaccine* [online]. 2018, **36**(35), 5235–5244. ISSN 0264410X. Dostupné z: doi:10.1016/j.vaccine.2018.07.038
[19] CHEN, Jiezhong a Robert SEVIOUR. Medicinal importance of fungal β-(1→3), (1→6)-glucans. *Mycological Research* [online]. 2007, **111**(6), 635–652. ISSN 09537562. Dostupné z: doi:10.1016/j.mycres.2007.02.011
[20] DE GRAAFF, Priscilla, Cor BERREVOETS, Christiane RÖSCH, Henk A. SCHOLS, Kees VERHOEF, Harry J. WICHERS, Reno DEBETS a Coen GOVERS. Curdlan, zymosan and a yeast-derived β-glucan reshape tumor-associated macrophages into producers of inflammatory chemo-attractants. *Cancer Immunology, Immunotherapy* [online]. 2021, **70**(2), 547–561. ISSN 0340-7004, 1432-0851. Dostupné z: doi:10.1007/s00262-020-02707-4
[21] DE GRAAFF, Priscilla, Coen GOVERS, Harry J. WICHERS a Reno DEBETS. Consumption of β-glucans to spice up T cell treatment of tumors: a review. *Expert Opinion on Biological Therapy* [online]. 2018, **18**(10), 1023–1040. ISSN 1471-2598, 1744-7682. Dostupné z: doi:10.1080/14712598.2018.1523392
[22] RAVI, R. NF-κB in cancer—a friend turned foe. *Drug Resistance Updates* [online]. 2004, **7**(1), 53–67. ISSN 13687646. Dostupné z: doi:10.1016/j.drup.2004.01.003
[23] VETVICKA, Vaclav, Luca VANNUCCI, Petr SIMA a Josef RICHTER. Beta Glucan: Supplement or Drug? From Laboratory to Clinical Trials. *Molecules* [online]. 2019, **24**(7), 1251. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules24071251
[24] VĚRA KRPATOVÁ. *Příprava karboxymethyl chitin-glukanového komplexu ze schizophyllum commune* [online]. Zlín, 2012. Dostupné z: http://digilib.k.utb.cz/handle/10563/21745?locale-attribute=cs. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati
[25] ZHANG, Yifeng, Huiling KONG, Yapeng FANG, Katsuyoshi NISHINARI a Glyn O. PHILLIPS. Schizophyllan: A review on its structure, properties, bioactivities and recent developments. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* [online]. 2013, **1**(1), 53–71. ISSN 22126198. Dostupné z: doi:10.1016/j.bcdf.2013.01.002
[26] ZHONG, Kui, Litao TONG, Liya LIU, Xianrong ZHOU, Xingxun LIU, Qi ZHANG a Sumei ZHOU. Immunoregulatory and antitumor activity of schizophyllan under ultrasonic treatment. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2015, **80**, 302–308. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2015.06.052
[27] COVIELLO, Tommasina, Antonio PALLESCHI, Mario GRASSI, Pietro MATRICARDI, Gianfranco BOCCHINFUSO a Franco ALHAIQUE. Scleroglucan: A

Versatile Polysaccharide for Modified Drug Delivery. *Molecules* [online]. 2005, **10**(1), 6–33. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/10010006

[28] COVIELLO, Tommasina, Gina COLUZZI, Antonio PALLESCHI, Mario GRASSI, Eleonora SANTUCCI a Franco ALHAIQUE. Structural and rheological characterization of Scleroglucan/borax hydrogel for drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2003, **32**(3–5), 83–92. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/S0141-8130(03)00041-2

[29] ELSEHEMY, Islam A., Azza M. NOOR EL DEEN, Hassan M. AWAD, Mohamed H. KALABA, Saad A. MOGHANNEM, Ibrahim H. TOLBA a Mohamed A.M. FARID. Structural, physical characteristics and biological activities assessment of scleroglucan from a local strain Athelia rolfsii TEMG. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2020, **163**, 1196–1207. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.06.272

[30] MOCHIZUKI, Shinichi, Noriko MIYAMOTO a Kazuo SAKURAI. Oligonucleotide delivery to antigen presenting cells by using schizophyllan. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics* [online]. 2022, **42**, 100434. ISSN 13474367. Dostupné z: doi:10.1016/j.dmpk.2021.100434

[31] MATSUMOTO, T. Chemically modified polysaccharide schizophyllan for antisense oligonucleotides delivery to enhance the cellular uptake efficiency. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* [online]. 2004, **1670**(2), 91–104. ISSN 03044165. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbagen.2003.10.019

[32] Zdroje betaglukanu. *Betaglukan.cz* [online].Dostupné z:

https://www.betaglukan.cz/zdroje-betaglukanu/

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

CR3 Complement receptor 3

PRR pattern recognition receptors (receptory pro rozpoznávání vzorů)

PAMP pathogen-associated mollecular patterns

TLR Toll-like receptory

NF-κβ, nukleární faktor kappa B

RNA ribonukleová kyselina

AS ODN antisense oligonukleotidy

SEZNAM OBRÁZKŮ

[1] Obrázek 1 – The chemical structure of betaglucans from different sources. In: *ResearchGate*[online]. [cit. 2023-03-18]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/338084065_Structural_Features_Modification_and_Functionalities_of_Beta-Glucan

[2] Obrázek 2– 3D Structural Insights into β-Glucans and Their Binding Proteins. In: *PubMed Central* [online]. 2021 [cit. 2023-03-18]. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7915573/

[3] Obrázek 3 – Wild shiitake mushroom. In: *Pixabay* [online]. [cit. 2023-03-18]. Dostupné z: https://pixabay.com/cs/photos/divoké-houby-shiitake-hora-jídlo-4836310/

[4] Obrázek 4 – Maitake mushroom. In: *Dreamstime* [online]. [cit. 2023-03-18]. Dostupné z: https://www.dreamstime.com/royalty-free-stock-photo-maitake-mushroom-growing-nature-image33060375

[5] Obrázek 5 – Schizophyllum commune. In: *Pixabay* [online]. [cit. 2023-03-18]. Dostupné z: https://pixabay.com/cs/photos/splitgill-houba-houby-7796165/

[6] Obrázek 6 – Agracius brasiliensis In: *Dreamstime* [online]. [cit. 2023-04-21]. Dostupné z: https://www.dreamstime.com/stock-photography-fresh-almond-mushrooms-image19946352

[7] Obrázek 7 – Pleurotus ostreatus In: *Dreamstime* [online]. [cit. 2023-04-21]. Dostupné z: https://www.dreamstime.com/stock-photo-pleurotus-ostreatus-edible-mushrooms-excellent-taste-image42388518

[8] Obrázek 8 – MATSUMOTO, T. Chemically modified polysaccharide schizophyllan for antisense oligonucleotides delivery to enhance the cellular uptake efficiency. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* [online]. 2004, **1670**(2), 91–104. ISSN 03044165. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbagen.2003.10.019