

Imunomodulační účinnost beta-glukanu u dětí s recidivujícími respiračními infekcemi

**MUDr. Pavel Kostiuk, CSc.,
 PharmDr. Vladimír Végh,
 PharmDr. Lucie Kotlářová,
 Edukafarm, Praha**

**Doc. MUDr. Miloš Jeseňák,
 Ph. D., MBA, Klinika dětí
 a dorastu JLF UK a UNM,
 Martin**

**Prof. MUDr. Martin
 Hrubíško, PhD., Oddelenie
 klinickej imunológie
 a alergológie, OÚSA,
 Bratislava**

*Recidivující onemocnění vznikající na podkladě oslabené imunity představují významný zdravotnický, sociální i ekonomický problém. Proto jsou zkoumány možnosti, jak stimulací imunity výskyt těchto onemocnění snížit. V odborné literatuře se stále častěji objevují studie účinnosti imunomodulačních látek přírodního původu, mezi něž patří i beta-glukany, zařazované do širší skupiny biologicky aktivních polysacharidů. Důležitým příspěvkem k této problematice je nová, multicentrická, placebo kontrolovaná studie slovenských autorů (Jeseňák, Hrubíško, et al.),¹ která se zabývala účinkem 1,3/1,6 beta-glukanu na výskyt opakovaných respiračních infekcí a na imunologické parametry u dětí; byla publikována v odborném časopise *International Immunopharmacology* (jde o významný časopis, zařazený do databáze *Current Contents*). Přinášíme základní informace o této studii.*

Recidivující respirační infekce

Recidivující respirační infekce (RRI) jsou v běžné pediatričtí praxi značným problémem, protože výrazně přispívají k morbiditě v předškolním věku. Podle epidemiologických studií přibližně 6 procent dětí do 6 let věku trpí RRI, ve věkové skupině od 1 do 4 let je postiženo RRI dokonce 18 procent dětí.² Definice RRI se ovšem u různých autorů liší, většinou v nich ale figuruje minimálně 6 infekcí ročně, ¹ infekce měsíčně horních dýchacích cest v období od září do dubna, nebo minimálně 3 infekce horních či dolních dýchacích cest ročně. U některých dětí s RRI jsou nalézány snížené hladiny některých imunitních parametrů, například nižší hladina některých subtypů imunoglobulinů, vztah těchto odchylek k výskytu RRI je předmětem odborných diskusí.³

Biologicky aktivní polysacharidy

Imunomodulace má dnes svoje pevné místo v léčbě, resp. prevenci RRI. V praxi je využívána celá řada imunomodulačních látek, nicméně jen u několika z nich jsou k dispozici kontrolované klinické studie. Jednou z těchto látek je pleuran, biologicky aktivní polysacharid (1,3/1,6 beta-glukan) izolovaný z hlívy ústříčné (*Pleurotus ostreatus*). Biologicky aktivní polysacharidy (BAP) se vyznačují imunomodulační aktivitou, ovlivňují jak specifickou, tak nespecifickou imunitní odpověď,⁴ zvyšují počet NK-buněk,^{5,6} stimulují fagocytární aktivitu a zvyšují postvakcinační produkci protilátek.⁷ Pokud jde o mechanismus účinku, významnou roli hrají receptory na povrchu buněk, na které polysacharid působí.⁸ Pro biologický účinek je důležitá větvená struktura polysacharidové molekuly s glykosidickými vazbami v pozicích beta(1-3) a beta(1-6).^{9,10} Různé typy BAP mají však odlišnou účinnost. Beta-glukany s velkou moleku-

lou, mezi které patří i pleuran (1,3/1,6 beta-glukan), mají schopnost aktivovat leukocyty, jejich fagocytární a cytotoxické působení, především svým vlivem na cytokiny a chemokiny.¹¹

Klinická studie

V předchozí, nezaslepené studii, zkoumali slovenští autoři (Jeseňák et al.)¹² vliv 1,3/1,6 beta-glukanu pleuranu v kombinaci s vitamínem C (který se vyznačuje také některými imunostimulačními účinky) na snížení morbidity u skupiny dětí s RRI. V této nezaslepené studii byla potvrzena účinnost a bezpečnost uvedené kombinace při snižování morbidity dětí. Na základě těchto výsledků provedli autoři další, randomizovanou, dvojitě zaslepenou, kontrolovanou studii,¹ o které v tomto článku referujeme.

Metodika

Do studie bylo zařazeno 175 dětí ve věku 2-10 let, s anamnézou RRI (u věkové skupiny 2-5 let výskyt více než 5 infekcí, u skupiny 6-10 let výskyt 3 respiračních infekcí ročně). Ze studie byly vyloučeny děti, které 14 dní před zahájením studie byly léčeny imunomodulačními přípravky a/nebo antibiotiky. Zařazené děti byly sledovány na 19 pracovištích dětské alergologie a imunologie na Slovensku a v Čechách v období mezi únorem 2009 a říjnem 2010. Skupina byla randomizována na dvě podskupiny. V první (n=81) byl podáván přípravek Imunoglukan P4H sirup (10 mg imunoglukanu a 10 mg vitamínu C v 1 ml) v dávce 1 ml/5 kg hmotnosti/den, v druhé, kontrolní skupině (n=94) samotný vitamin C (10 mg v 1 ml sirupu), každý den ráno, po dobu 6 měsíců. Imunoglukan byl získán patentovaným postupem z hlívy ústříčné (tento beta-glukan byl izolován, identifikován a chemicky charakterizován Karacsonylem and Kuniakem,⁹ a je registrován v 16 zemích jako bezpečná látka). Děti

byly vyšetřovány na počátku studie, po 6 měsících léčby a 6 měsíců po jejím ukončení. Byla sledována frekvence a trvání respiračních infekcí, případný výskyt nežádoucích účinků léčby, podávání antibiotik. Při každé kontrole byly odebírány vzorky na stanovení hladin protilátek IgG, IgA, IgM, IgE, počtu subpopulací lymfocytů, NK buněk a dalších imunologických parametrů. Ze zařazených 175 dětí bylo 17 vyřazeno pro nespolupráci, studii dokončilo 158 dětí.

Výsledky

Podávání přípravku Imunoglukan P4H vedlo k signifikantnímu snížení frekvence respiračních onemocnění. V průběhu sledování 36% dětí v aktivní skupině onemocnělo respirační infekcí, zatímco v kontrolní skupině jen 21% dětí (rozdíl byl signifikantní - $p < 0,05$). Podávání přípravku významně snížilo (oproti kontrole) výskyt chřipky, chřipkovitých onemocnění i infekcí dolních dýchacích cest ($0,20 \pm 0,55/\text{rok}$ vs. $0,42 \pm 0,78/\text{rok}$, $p < 0,05$). Účinnost přípravku s imunoglukanem byla hodnocena jako velmi dobrá (signifikantní snížení morbidity) u 66% dětí, rozdíl proti kontrolní skupině byl významný ($p < 0,001$). Hodnocení "velmi dobrá" a "dobrá" účinnost převládalo významně ve skupině imunoglukanu (93,6% vs. 82,7%, $p = 0,024$).

Pokud jde o laboratorní parametry imunity, při výchozím vyšetření byly obě skupiny srovnatelné. V průběhu studie se projevila i v oblasti imunitních markerů vyšší účinnost pleuranu oproti kontrole. Pokud jde o humorální imunitu, v obou skupinách došlo během 12 měsíců sledování k poklesu počtu CD19+ B lymfocytů (buněk, které se diferencují v plazmatické buňky, produkující protilátky), ale ve vývoji hladin imunoglobulinů se projevily mezi skupinami rozdíly. Ve skupině imunoglukanu se zvýšila hladina imunoglobulinu IgG, a zůstala zvýšená po celou

dobu sledování, zatímco v kontrolní skupině k významnějším změnám tohoto parametru nedošlo. V obou skupinách se postupně zvyšovala koncentrace IgA, ale rozdíl oproti výchozím hodnotám byl výraznější ve skupině imunoglukanu. V této skupině se také během prvních 6 měsíců zvyšovala hladina IgM, a hladina pak zůstala zvýšená dalších 6 měsíců sledování, zatímco v kontrolní skupině nedošlo k výraznějším změnám.

Podávání přípravku Imunoglukan P4H způsobilo také prospěšné změny ve specifické buněčné imunitě a v počtu NK buněk. Absolutní počet CD3+, CD4+ a CD8+ T lymfocytů postupně během studie poklesl v obou skupinách. Podávání přípravku s imunoglukanem však (na rozdíl od kontrolní skupiny) zabránilo poklesu počtu CD8+ T cytotoxických lymfocytů, tento počet zůstal po celou dobu sledování stabilní. Počet NK buněk během léčby ve skupině imunoglukanu vzrostl, a poklesl až na konci studie. V kontrolní skupině ke vzestupu počtu NK buněk vůbec nedošlo. Pokud jde o toleranci léčby, nežádoucí příznaky se ani v jedné skupině nevyskytly, přípravek Imunoglukan P4H byl pacienty dobře tolerován.

Diskuse

Ve studii byla prokázána účinnost imunomodulačního přípravku Imunoglukan P4H, pokud jde o snížení počtu recidivujících respiračních infekcí. Tento přípravek ovlivnil i řadu laboratorních parametrů vrozené a získané

imunity. Vzestup hladiny všech tří tříd imunoglobulinů je známkou toho, že Imunoglukan P4H podporuje fyziologické dozrávání humorální imunitní odpovědi. Podávání přípravku dále zpomalilo pokles hladiny T-cytotoxických lymfocytů a zvýšilo počet NK buněk.

Jde o první randomizovanou, kontrolovanou studii, v které byla zkoumána účinnost imunoglukanu (1,3/1,6 beta-glukanu izolovaného z hlívy ústříčné) na morbiditu a vybrané imunitní parametry u dětí s recidivujícími respiračními infekcemi. Protože výskyt RRI představuje, vzhledem k rostoucí rezistenci na antibiotika, významný problém, je stále větší důležitost přikládána prevenci. V posledních letech se začínají objevovat studie, které prověřují účinnost imunomodulátorů přírodního původu ve standardně uspořádaných klinických studiích. Studií, které by ověřovaly imunomodulační schopnosti biologicky aktivních polysacharidů u pacientů s RRI, bylo dosud provedeno jen několik. V jedné z nich již byl imunostimulační účinek imunoglukanu na frekvenci a průběh RRI prokázán - více než 50% snížení frekvence RRI u 71,2% zařazených dětí.¹² Efekt 1,3/1,6 beta-glukanu na snížení frekvence respiračních infekcí byl prokázán i u sportovců.^{5,13}

Ve studii, o které referujeme, bylo poprvé prokázáno zvýšení všech tří isotypů imunoglobulinů podáváním imunoglukanu. Studie přinesla důkazy o účinnosti imunoglukanu, pokud jde o zlepšení imunity u dětí s RRI, a to nejen v klinické, ale i laboratorní oblasti. Zlepšení bylo komplexního charakteru, projevilo se v obou složkách imunity - humorální i buněčné.

Literatura

1. Jesenak M, et al. Immunomodulatory effect of pleuran (β -glucan from *Pleurotus ostreatus*) in children with recurrent respiratory tract infections. *Int Immunopharmacol* 2013;15(2):395-9.
2. Bellanti JA. Recurrent respiratory tract infections in paediatric patients. *Drugs* 1997;54 Suppl 1:1-4.
3. Litzman J, et al. Isoprinostine does not protect against frequent respiratory tract infections in childhood. *Eur J Pediatr* 1999;138:32-37.
4. Kim HS, et al. Stimulatory effect of β -glucans on immune cells. *Immune Network* 2011;11:191-195.
5. Bergendiova K, et al. Pleuran (β -glucan from *Pleurotus ostreatus*) supplementation, cellular response and respiratory tract infections in athletes. *Eur J Appl Physiol* 2011;111:2033-2040.
6. Bobovcak M, et al. Effect of Pleuran (β -glucan from *Pleurotus ostreatus*) supplementation on cellular immune response after intensive exercise in elite athletes. *Appl Physiol Nutr Metab* 2010;35:755-762.
7. Haladova E, et al. Immunomodulatory effect of glucan on specific and nonspecific immunity after vaccination in puppies. *Acta Vet Hung* 2011;59:77-86.
8. Brown GD, Brown S. Immune recognition of fungal β -glucans. *Cell Microbiol* 2005;7:471-479.
9. Karacsonyi S, et al. Polysaccharides of *Pleurotus ostreatus*: isolation and structure of pleuran, an alkali-insoluble β -D-glucan. *Carbohydrate Polymers* 1994;24:107-111.
10. Novak M, et al. Glucans as biological response modifiers. *Endocr Metab Immune Disord Drug Target* 2009;9:67-75.
11. Williams DL, et al. Glucan-based macrophage stimulators. *Clin Immunother* 1996;5:392-399.
12. Jesenak M, et al. Imunoglukan P4H in the prevention of recurrent respiratory infections in childhood. *Cesk Pediatr* 2010;65:639-647.
13. Talbott S, et al. Effect of beta 1,3/1,6 glucan on upper respiratory tract infection symptoms and mood state in marathon athletes. *J Sports Sci Med* 2009;8:509-515.

Poznámka: účinná látka imunoglukan je ve slovenském písemnictví označována jako pleuran.

Imunomodulační aktivita beta-glukanů u alergií

Jedním z nejžádanějších účinků imunomodulace je především normalizace narušených imunitních reakcí - a to jak ve smyslu posílení imunitní ochrany, tak ve smyslu potlačení patologicky zesílené imunitní odezvy - alergie. V současnosti nejuznávanější teorie vysvětlující vznik alergické reakce je postavená na dysbalanci regulačních linií lymfocytů Th1 a Th2, kde převaha Th2 lymfocytů vede k rozvoji alergického fenotypu.

Experimentální studie ukazují, že imunomodulační účinek beta-glukanů je kromě jiného charakteristický právě zvýšením tvorby interleukinu-12, který podporuje diferenciaci lymfocytů Th1/Th2 ve smyslu podpory „protialergenní“ linie Th1. Tato experimentální pozorování podporuje už i několik klinických studií u lidí. Např. při podávání beta-1,3-D-glukanu pacientům s alergickou rhinitidou (potvrzená alergie na pyl olivovníku) po dobu 12 týdnů se na konci studie prokázaly

významně nižší hladiny cytokinů produkovaných Th2 lymfocytů (IL-4 a IL-5); naopak hladina IL-12, produkovaného zejména linií Th1 lymfocytů významně stoupla (oproti placebo). Množství eozinofilů, považovaných za velmi důležité hráče v patologii alergického zánětu, po působení beta-glukanu signifikantně kleslo. Beta-glukan tedy významně snížil markery alergického zánětu a autoři jej považují za vhodný doplněk k standardní terapii alergické rhinitidy. Ve druhé studii se při perorálním podávání beta-glukanu izolovaného z houby *Lentinus edodes* (lentinan) pozorovalo významné snížení příznaků pylové rhinitidy a rinokonjunktivitidy (sekreci z nosu, kýčání, nazální kongesci a slzení); jakož i významné snížení alergen-specifických i celkových IgE protilátek. Příznivý účinek u některých pacientů přetrvával až po dobu 6 měsíců od ukončení aktivního podávání beta-glukanu, což naznačuje dlouhodobý charakter regulace imunitní odpovědi.

Vzhledem ke zvýšení frekvenci onemocnění dýchacích cest u alergických pacientů, daného zánětlivým procesem probíhajícím v sliznicích postižených jedinců, je imunomodulace směrující ke zlepšení obranyschopnosti často žádoucí. Poznatky o specifickém efektu beta-glukanů na jednotlivé subpopulace Th lymfocytů však naznačuje, že jejich potenciál u pacientů s alergií je širší, a že jejich účinek má vliv i na některé složky samotné podstaty onemocnění. To samozřejmě otvírá dveře pro intenzivnější sledování a získávání podrobnějších klinických zkušeností s těmito látkami, jejichž podávání (i vzhledem k výbornému bezpečnostnímu profilu) by mohlo představovat velmi cenný pomocný postup ke klasické léčbě alergií.

Literatura

Jeseňák M, et al. β -Glucans in the treatment and prevention of allergic diseases. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2012 Dec 17. [Epub ahead of print] doi: 10.1016/j.aller.2012.08.008.