

STIMULFOS<sup>®</sup>  
— PET LINE —

BETAGLUCANI



*Teknofarma*

# $\beta$ -GLUCANI

## Introduzione

Il tratto gastroenterico ha un ruolo di sorveglianza immunitaria fondamentale, venendo costantemente a contatto con sostanze definite “not self”. Il sistema immunitario dell’intestino è formato dagli enterociti, che costituiscono una vera e propria barriera fisica, e dal tessuto linfoide associato all’intestino (GALT- gut-associated lymphoid tissue) che consta di svariate cellule del sistema immunitario tra le quali linfociti B, linfociti T, cellule dendritiche e cellule M, organizzate all’interno delle Placche del Peyer. Queste cellule sono in grado di riconoscere particolari strutture, associate a patogeni potenzialmente pericolosi, dette PAMPs (Pathogen Associated Molecular Patterns) e di legarle grazie a recettori di riconoscimento specifici (PRRs-Pattern Recognition Receptors) (Stier et al., 2014, Volman et al., 2008). I  $\beta$ -glucani sono molecole che vengono riconosciute dal sistema immunitario come estranee e si legano a questi recettori specifici PRRs presenti sulla superficie delle cellule del sistema immunitario. Questa interazione induce una cascata di reazioni che portano all’attivazione sia dell’immunità innata sia di quella acquisita (Stier et al., 2014).

Prima ancora che i  $\beta$ -glucani fossero identificati come immunomodulatori, gli effetti benefici di queste molecole erano già conosciuti nella medicina tradizionale orientale: alcuni funghi quali ad esempio lo Shiitake in Giappone o il Lingzhi in Cina erano utilizzati per rafforzare il sistema immunitario (Stier et al., 2014).

## Struttura dei $\beta$ -glucani

I  $\beta$ -glucani vengono isolati prevalentemente dalle strutture parietali dei funghi ma si riscontrano anche in altre fonti quali ad esempio batteri, lieviti, alghe e cereali. Dal punto di vista chimico sono polisaccaridi omopolimeri lineari del glucosio, legati con legami glicosidici in posizione  $\beta$ -(1-3), da cui si dipartono ramificazioni di glucosio connesse con legami  $\beta$ -(1-6) o  $\beta$ -(1-2) glicosidici (Novak e Vetvicka, 2009, Brown e Gordon, 2003) (Fig. 1).

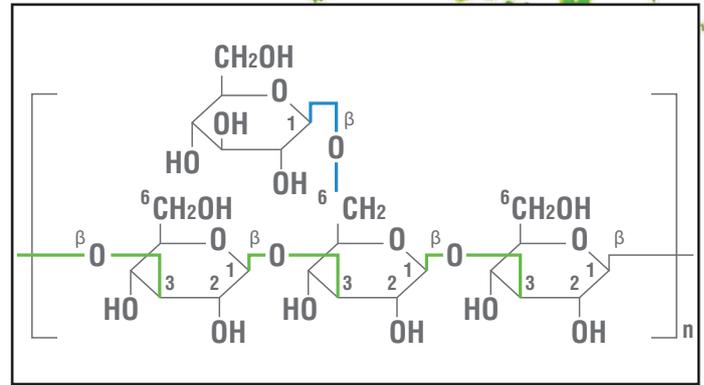


Figura 1: Struttura chimica dei  $\beta$ -(1-3)-(1-6)-glucani

La struttura macromolecolare di questi carboidrati varia a seconda della fonte da cui provengono:

- la parete cellulare di lieviti e funghi, ad esempio, è composta da catene lineari con legami  $\beta$ -(1-3) e da residui ramificati di glucosio collegati da legami  $\beta$ -(1-6);
- le pareti cellulari di cereali, quali orzo e avena, contengono solo catene lineari di glucosio connesse da legami  $\beta$ -(1-3) e  $\beta$ -(1-4) alternati;
- le pareti cellulari dei batteri sono costituite da catene lineari connesse con legami  $\beta$ -(1-3) (Volman et al., 2008).

## Fonti di $\beta$ -glucani

Si riscontrano numerose fonti naturali di  $\beta$ -glucani tra cui le pareti di numerosi funghi e lieviti (per esempio *Saccharomyces cerevisiae*), alcuni tipi di alghe (ad esempio quelle appartenenti al genere *Laminaria*), batteri (ad esempio *Alcaligenes faecalis*) e cereali quali orzo e avena (Novak e Vetvicka, 2009).

A seconda della fonte i  $\beta$ -glucani presentano differenze notevoli nella loro solubilità, massa molecolare, struttura terziaria, grado di ramificazione e carica elettrica; tali fattori influiscono complessivamente sulle capacità di queste molecole di avere effetti immunomodulatori (Novak e Vetvicka, 2009, Brown e Gordon, 2003, Chen e Seviour, 2007).

Anche i  $\beta$ -glucani con struttura, peso molecolare e conformazione simile possono differire notevolmente come caratteristiche fisiche e biochimiche.

I  $\beta$ -glucani di origine fungina derivati da *Lentinus edodes*, *Schizophyllum commune*, *Grifola frondosa*, *Sclerotinia sclerotiorume* *Saccharomyces cerevisiae* sono tra i più comuni e sono tutti  $\beta$ -(1-3)-(1-6)-glucani con tuttavia differenti ramificazioni che determinano una potenza d’azione diversa (Chen e Seviour, 2007).



## Caratteristiche chimico-fisiche e attività

Studi effettuati in vivo ed in vitro hanno evidenziato che i  $\beta$ -glucani insolubili vengono fagocitati dalle cellule dendritiche e dai macrofagi sfruttando i recettori della Dectina-1. Sebbene i  $\beta$ -glucani insolubili possano essere assorbiti dalle cellule dendritiche anche senza che si formi il legame con il recettore della Dectina-1, questo meccanismo è fondamentale per indurre la risposta delle cellule T e per il rilascio di citochine. Tuttavia non tutti i glucani insolubili sono in grado di attivare tale recettore ma solo quelli contenenti un legame  $\beta$ -(1-3)-(1-6). I  $\beta$ -glucani insolubili inducono il processo di fagocitosi, promuovono la differenziazione delle cellule T in Th1 e migliorano la citotossicità dei linfociti T.

I  $\beta$ -glucani solubili sono anch'essi riconosciuti dal recettore della Dectina-1 ma non sono in grado di attivare la risposta immunitaria attraverso questa via; i glucani solubili si legano anche ai recettori CR3 che, una volta attivati, portano all'attivazione di una risposta mediata dal complemento e supportata da specifici anticorpi (Stier et al., 2014).

Alcuni autori hanno evidenziato come anche la frequenza di ramificazione sia fondamentale per poter determinare l'attività biologica dei  $\beta$ -(1-3)-(1-6)-glucani: nei lieviti il grado di ramificazione è compreso tra 1 ogni 30 e 1 ogni 5 residui lineari di glucosio legati con legami (1-3) (Chen e Seviour, 2007, Novak e Vetvicka, 2009). MacroGard® (marchio di Biorigin), utilizzato nello STI-MULFOS Pet Line, è una fonte di  $\beta$ -(1-3)-(1-6)-glucani, estratti da un ceppo selezionato di *Saccharomyces cerevisiae*, insolubili, purificati e con frequenza di ramificazione compresa fra 1 ogni 30 e 1 ogni 5 residui di glucosio.

## Meccanismo d'azione

Studi effettuati in vitro hanno dimostrato che i  $\beta$ -glucani sono in grado di attivare i leucociti, la loro attività fagocitaria e citotossica e di stimolare la produzione di mediatori dell'infiammazione, di citochine e di chemochine come, ad esempio, le interleuchine (IL) IL-8, IL-1 $\beta$ , IL-6 e il TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ ) (Brown e Gordon, 2003). Quindi, i  $\beta$ -glucani incrementano la fagocitosi delle cellule del sistema immunitario deputate a tale scopo (granulociti, monociti, macrofagi e cellule dendritiche). Tra queste cellule i macrofagi svolgono il ruolo più importante, data la loro spiccata attività di difesa dell'organismo nei confronti di batteri, virus, parassiti e cellule tumorali.

Il primo step dell'interazione tra i  $\beta$ -glucani e le cellule del sistema immunitario è dato dal legame a recettori specifici (PRRs -*Pattern Recognition Receptors*) presenti sulla superficie della cellula macrofagica. I macrofagi posseggono numerosi recettori in grado di riconoscere il  $\beta$ -glucano, tra cui la Dectina-1, il CR3 (Complement Receptor 3), il TLR-2 (Toll-Like Receptor 2), la lattosilceramide e probabilmente altri ancora. Tuttavia, l'interazione tra il  $\beta$ -glucano e i recettori CR3 e Dectina 1 sembra essere la più efficace (Novak e Vetvicka, 2009). Questi recettori si riscontrano, oltre che sui macrofagi, anche su numerose cellule del sistema immunitario (ad esempio monociti) e sulle cellule dell'epitelio intestinale. (Stier et al., 2014, Stuyven et al., 2010).

Il legame dei  $\beta$ -glucani con il recettore attiva i macrofagi con conseguente aumento della chemiotassi; si assiste ad un aumento dell'espressione di molecole di adesione sulla superficie dei macrofagi e di adesione all'endotelio.

A seguito dell'assunzione per via orale, i  $\beta$ -glucani vengono captati dalle cellule M, localizzate a livello del piccolo intestino, e vengono trasportati dal lume intestinale alle cellule del sistema immunitario localizzate nelle placche del Peyer (Novak e Vetvicka, 2009, Vetvicka e Vetvickova, 2007).

Successivamente sono prelevati dai macrofagi e trasferiti al sistema reticolo endoteliale e al midollo osseo (Novak e Vetvicka, 2009).

## I recettori

### ▪ Dectina-1

La Dectina-1 è un recettore trans membrana di tipo II composto da 244 aminoacidi e da 6 residui di cisteina con la seguente conformazione:

- un dominio extracellulare lectina-simile per il riconoscimento dei carboidrati, che identifica i  $\beta$ -(1-3) e i  $\beta$ -(1-6) glucani e i lieviti intatti;
- una porzione trans membrana;
- una coda citoplasmatica che possiede un motivo ITAM (Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif) per attivare una tirosina-chinasi.

L'attivazione di questa tirosina-chinasi induce una risposta cellulosa-mediata tramite la sintesi di TNF $\alpha$ , IL-2, IL-10 e IL-12.

Oltre ai  $\beta$ -glucani questo tipo di recettore è in grado di riconoscere ligandi endogeni presenti sulle cellule T.

La Dectina è espressa principalmente sui macrofagi e sui neutrofili e, in misura minore, sulle cellule dendritiche e in alcune sottopopolazioni di cellule T ma non nelle cellule NK (Chen e Seviour, 2007, Brown et al., 2003, Brown e Gordon, 2003).



Questo tipo di recettore è il principale sito di attacco dei  $\beta$ -glucani e agisce in collaborazione con i Toll Like Receptor 2 attivando la fagocitosi e regolando la produzione di citochine e di altri mediatori dell'infiammazione (Stuyven et al., 2010).

Inoltre anche la fagocitosi attuata dai macrofagi è una via che attiva il recettore della Dectina-1.

È stato dimostrato che la Dectina-1 può legare specificamente i  $\beta$ -(1-3)-glucani e solo se questi sono formati almeno da almeno 10 oligosaccaridi (Chen e Seviour, 2007). In particolare solo i  $\beta$ -glucani che presentano un legame  $\beta$ -(1-3) possono legarsi con questo tipo di recettore, mentre i legami misti  $\beta$ -(1-3)/(1-4) (da altre fonti come ad esempio alcuni cereali) non vengono riconosciuti dalla Dectina-1 (Stier et al., 2014).

#### ▪ Recettori CR3

I recettori CR3 sono una classe di integrine principalmente espresse su neutrofili, monociti, NK cells e specifici linfociti. Il CR3 funziona come una molecola di adesione e permette la fagocitosi delle particelle opsonizzate, incluse quelle di  $\beta$ -glucani (Chen e Seviour, 2007, Brown e Gordon, 2003).

#### ▪ Toll-Like Receptor

I TLR sono dei recettori trans membrana studiati principalmente in campo umano. Esercitano la loro azione su un gruppo eterogeneo di agenti patogeni tra cui funghi, batteri, virus e protozoi. I  $\beta$ -glucani di origine fungina si legano al TLR2 e al TLR4 che, a loro volta, attivano la risposta immunitaria innata. Il TLR2 provoca un aumento dei livelli di NF- $\kappa$ B (fattore nucleare  $\kappa$ B) e la produzione di citochine, incluse il TNF- $\alpha$  e IL-12 (Chen e Seviour, 2007).

#### ▪ Lattosilceramide

Il lattosilceramide è un glicosfingolipide che si riscontra nelle membrane citoplasmatiche di numerose cellule, tra cui i neutrofili e le cellule endoteliali. È composto da una porzione lipidica idrofobica, formata da un ceramide e da una porzione trans membrana composta da uno zucchero (Chen e Seviour, 2007). Si suppone che l'interazione tra il  $\beta$ -glucano e il recettore induca l'attivazione di una proteina infiammatoria macrofagica (MIP)-2 e dell'NF $\kappa$ B (fattore di trascrizione nucleare) e sia in grado di migliorare l'attività antimicrobica; tuttavia il meccanismo sottostante è ancora sconosciuto (Brown e Gordon, 2003).

## Effetti dei $\beta$ -glucani

È da tempo riconosciuta l'attività immunostimolante dei  $\beta$ -glucani nei confronti delle malattie infettive e in corso

di neoplasie, tanto che spesso vengono identificati con il termine "modificatori della risposta biologica". Inoltre, a metà degli anni Ottanta è stata dimostrata la loro capacità di stimolare l'ematopoiesi a seguito di trattamenti chemioterapici.

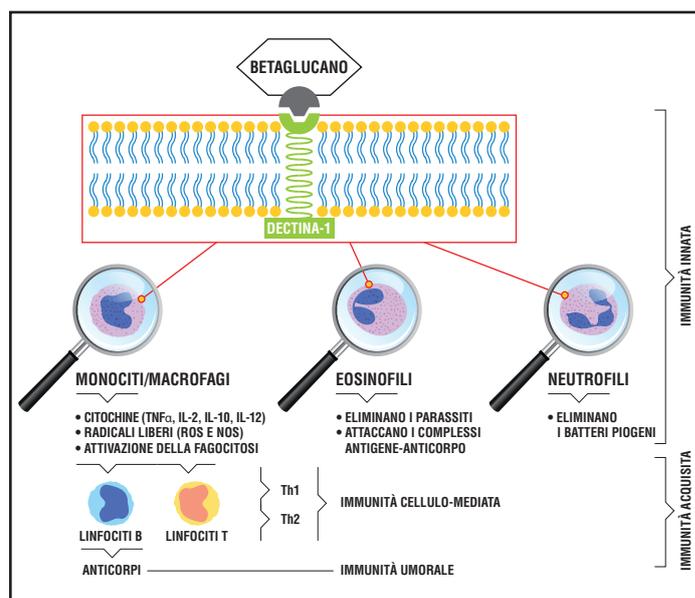
In vitro si è studiato come i  $\beta$ -glucani possono migliorare l'attività macrofagica, attivare le cellule mononucleate e i neutrofili (affinché esplicino la loro attività antimicrobica) ed influenzare l'attività delle cellule dendritiche.

È ben noto che la somministrazione di glucani migliora l'efficacia dell'immunoterapia antitumorale, sia in condizioni cliniche sia sperimentali. Il meccanismo d'azione dei  $\beta$ -glucani rimane tutt'ora poco conosciuto nonostante sia certo dipendere dalla via di somministrazione. Sembra che la loro spiccata attività antitumorale venga esplicata attraverso una stimolazione del sistema immunitario dell'ospite piuttosto che da una citotossicità diretta (Volman et al., 2008).

#### ▪ Uso dei $\beta$ -glucani per migliorare la risposta immunitaria

Alcuni  $\beta$ -glucani di origine fungina sono in grado di stimolare in modo marcato il sistema immunitario proteggendolo dai patogeni e dagli effetti dannosi delle tossine.

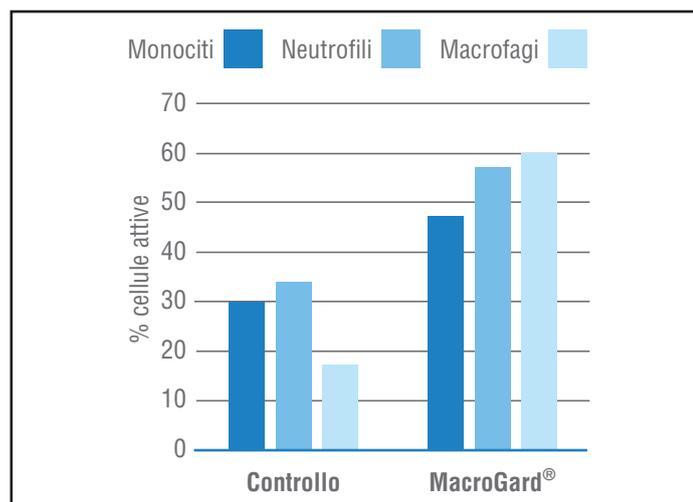
Poiché i  $\beta$ -glucani non sono prodotti dall'organismo, quando vengono somministrati sono riconosciuti dal sistema immunitario come "not-self" inducendo sia la risposta innata che quella acquisita (Chen e Seviour, 2007).



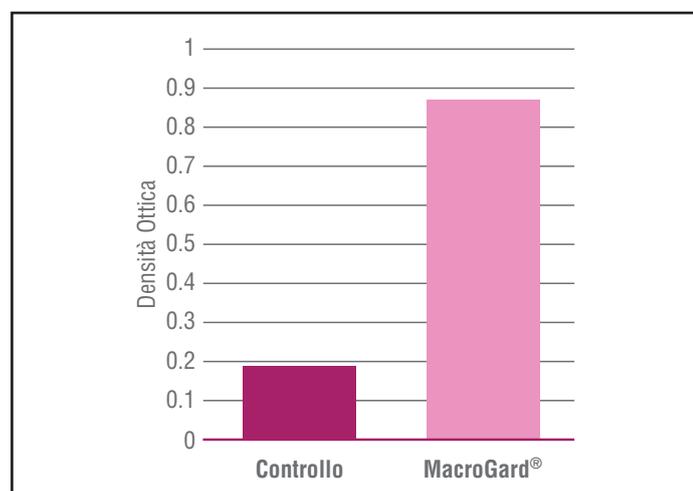
**Figura 2: Schema sulla stimolazione del sistema immunitario da parte dei  $\beta$ -glucani**



I  $\beta$ -glucani attivano la fagocitosi portando così all'eliminazione del patogeno e stimolano i macrofagi a produrre citochine (IL2, IL10, IL12) e immunomodulatori locali che a loro volta portano all'attivazione dell'immunità acquisita. Tale immunità coinvolge sia i linfociti B sia i T: i primi producono anticorpi mentre i secondi sono responsabili dell'immunità cellulo-mediata. Le citochine promuovono la differenziazione delle cellule T in T helper 1 (Th1) e T helper 2 (Th2) che mediano l'immunità cellulo-mediata o umorale rispettivamente (Chen e Seviour, 2007) (Fig. 2).



**Figura 3: Attività fagocitaria ematica dopo somministrazione di MacroGard® a 10 mg/kg per 14 giorni**



**Figura 4: Livello di anticorpi antialbumina dopo somministrazione di MacroGard® a 10 mg/kg per 21 giorni**

Differenti studi hanno indagato l'efficacia dei più comuni  $\beta$ -glucani presenti sul mercato ed è stato evidenziato come, taluni più di altri, siano in grado di attivare la fagocitosi e di migliorare la sintesi di IL-2. È ormai risaputo che questi polisaccaridi possono attivare i macrofagi e le cellule del sistema immunitario e portano alla secrezione di citochine ed interleuchine (IL-1, IL-2, IL-6, TNF $\alpha$ ) (Fig. 3).

La somministrazione orale di  $\beta$ -glucani (MacroGard®) è in grado di aumentare le concentrazioni sieriche di IgM e di diminuire quelle sieriche e mucosali di IgA, mentre non sono stati osservati effetti sui livelli di IgG. Le concentrazioni di IgA nel siero, nella saliva e nelle lacrime aumentano nuovamente non appena si interrompe la somministrazione di  $\beta$ -glucani. Questo evidenzia come la somministrazione di  $\beta$ -glucani sia in grado di influenzare l'immunità umorale (Stuyven et al., 2010, Vetvicka e Oliveira, 2014) (Fig. 4).

■ **Importanza dei  $\beta$ -glucani in corso di neoplasie**  
Molti chemioterapici utilizzati in corso di neoplasie mostrano un'azione citotossica non selettiva nei confronti delle cellule neoplastiche andando a colpire anche i tessuti sani. Tra questi tessuti, i più coinvolti sono quelli che presentano un elevato tasso di proliferazione come, ad esempio, il tessuto emopoietico del midollo osseo e le cellule della mucosa intestinale (Sener et al., 2006). In letteratura sono presenti numerosi lavori che indagano l'efficacia dei  $\beta$ -glucani in pazienti affetti da neoplasie. La somministrazione di  $\beta$ -glucani in pazienti oncologici sottoposti ad una terapia chemioterapica inibisce la morte cellulare e l'apoptosi delle cellule ematiche, grazie alla capacità di modulare la risposta biologica e all'effetto immunostimolante sul sistema immunitario. Si ottiene così una netta riduzione degli effetti tossici di tali farmaci, tra cui la leucopenia che espone il paziente ad un rischio maggiore di contrarre infezioni.

Inoltre il trattamento con i  $\beta$ -glucani riduce i livelli sierici di citochine proinfiammatorie come il TNF $\alpha$  limitando la risposta infiammatoria dell'ospite.

Molti composti chemioterapici hanno un'importante attività pro-ossidante e, per questo motivo, sono in grado di generare radicali liberi e specie reattive dell'ossigeno che amplificano i danni cellulari. L'assunzione di  $\beta$ -glucani limita la deplezione di glutazione, uno tra i maggiori antiossidanti cellulari, mantenendo una buona azione antiossidante e garantendo, quindi, un'elevata protezione nei confronti dei radicali liberi e della perossidazione lipidica (Sener et al., 2006, Tohamy et al., 2003, Chen e Seviour, 2007).

Infine tra le varie funzioni dei  $\beta$ -glucani va ricordata l'azione antigenotossica nei confronti degli agenti in grado di generare danni al DNA come, ad esempio, la ciclofosfamide e la doxorubicina (Oliveira et al., 2007).



## Tollerabilità

Secondo l'European Food Safety Authority i  $\beta$ -glucani estratti dai lieviti sono sicuri e ben tollerati e i rischi di provocare allergie sono paragonabili ai rischi dei prodotti contenenti lievito di birra. Sulla base delle informazioni in possesso dell'EFSA i  $\beta$ -glucani non risultano nutrizionalmente svantaggiosi e la loro fermentazione, una volta assunti per via orale, determina la formazione

di composti innocui (acidi grassi volatili, anidride carbonica, metano e idrogeno) che vengono eliminati senza determinare la comparsa di effetti collaterali. Inoltre i dati riguardanti l'assorbimento e la tossicità sub-acuta, acuta e sub-cronica non sono tali da poter destare preoccupazioni. Sulla base dei dati presenti in letteratura, anche i  $\beta$ -glucani derivanti da altre fonti sono stati giudicati sicuri per la salute dell'organismo (EFSA, 2011, Stier et al., 2014).

## BIBLIOGRAFIA

- Brown G. D., Gordon S., *Fungal  $\beta$ -Glucans and Mammalian Immunity*, *Immunity*, 19, pp. 311-315, 2003.
- Chan G. C., Chan W. K., Sze D. M., *The effects of beta-glucan on human immune and cancer cells*, *Journal of Hematology & Oncology*, 2 (25), 2009.
- Chen J., Seviour R., *Medicinal importance of fungal  $\beta$ -(1-3), (1-6)-glucans*, *Mycological Research*, III, pp.635-652, 2007.
- EFSA, *Scientific opinion on the safety of 'yeast beta-glucans' as a Novel Food ingredient*, *EFSA Journal*, 9(5), pp. 21-37, 2011.
- Novak M., Vetvicka V., *Glucans as biological response modifiers*, *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets*, 9 (1), pp. 67-75, 2009.
- Oliveira R. J., Matuo R., da Silva A. F., Matiazi H. J., Mantovani M. S., Ribeiro L. R., *Protective effect of  $\beta$ -glucan extracted from *Saccharomyces cerevisiae*, against DNA damage and cytotoxicity in wild-type (k1) and repair-deficient (xrs5) CHO cells*, *Toxicology in Vitro*, 21, pp. 41-52, 2007.
- Sener G., Eksioğlu-Demiralp E., Cetiner M., Ercan F., Yegen B. C.,  *$\beta$ -Glucans ameliorates methotrexate-induced oxidative organ injury via its antioxidant and immunomodulatory effects*, *European Journal of Pharmacology*, 542, pp. 170-178, 2006.
- Stier H., Ebbeskotte V., Gruenwald J., *Immuno-modulatory effects of dietary Yeast Beta-1,3/1,6-D-glucan*, *Nutrition Journal*, 13 (38), pp. 1-9, 2014.
- Stuyven E., Verdonck F., Van Hoek I., Daminet S., Duchateau L., Remon J. P., Goddeeris B., Cox E., *Oral Administration of  $\beta$ -1,3/1,6-Glucan to Dogs Temporally Changes Total and Antigen-Specific IgA and IgM*, *Clinical and Vaccine Immunology*, 17(2), pp. 281-285, 2010.
- Tohamy A. A., El-Ghor A. A., El-Nahas S. M., Noshay M. M.,  *$\beta$ -Glucans inhibits the genotoxicity of cyclophosphamide, adriamycin and cisplatin*, *Mutation Research*, 541, pp. 45-53, 2003.
- Vetvicka V., Oliveira C.,  *$\beta$ (1-3)(1-6)-D-glucans Modulate Immune Status and Blood Glucose Levels in Dogs*, *British Journal of Pharmaceutical Research*, 4(8), pp. 981-991, 2014.
- Vetvicka V., Vetvickova J.,  *$\beta$  1,3-glucan: silver bullet or hot air?*, *Open Glycoscience*, 3, pp. 1-6, 2010.
- Vetvicka V., Vetvickova J., *Physiological effects of different types of  $\beta$ -glucan*, *Biomedical Paper of the Medical Faculty of the University Palacky*, 151 (2), pp. 225-231, 2007.
- Volman J. J., Ramakers J. D., Plat J., *Dietary modulation of immune function by  $\beta$ -glucans*, *Physiology and Behavior*, 94, pp. 276-284, 2008.

