

Polysaccharides application in immunotherapy methods

Celso H. de Oliveira¹, Raquel S. Binotti²

1 – Médico alergologista, Doutor em Farmacologia;
2 – Bióloga, Gerente de Pesquisa Clínica.

Resumo

Objetivo: Avaliar o esquema de imunoterapia para dessensibilização de indivíduos atópicos, que utiliza extrato conjugado de ‘antígeno + β -D-glucana + ati-vador’ e é conhecido pelo nome “imunoterapia ativa-da”.

Métodos: Levantamento bibliográfico de artigos específicos em diferentes fontes de referências.

Resultados: Estudos *in vitro* e *in vivo* demonstram a potencialidade de tal associação. No entanto, alguns pontos puderam ser levantados: 1) a utilização de glu-cana em seres humanos deve ser considerada experi-mental; 2) não é conhecida a relação entre glucana e alergia; 3) a glucana pode ser um agente sensibilizante e pode causar reações adversas; não há referência na literatura ao “ativador” usado na formulação.

Conclusões: Há poucos estudos em seres humanos até o momento, não justificando sua utilização em lar-ga escala. Novos e mais detalhados estudos – sobretu-do randomizados, duplo-cegos e em humanos, ainda são necessários para que se comprove a segurança e aplicabilidade clínica de tal terapia.

Rev. bras. alerg. imunopatol. 2002; 25(6):200-203 imunoterapia ativada, glucana, zymosan, Saccharo-myces.

Abstract

Objectives: To analyze the immunotherapy method known as “activated immunotherapy” – which uses a conjugated extract that contains an antigen plus β -D-glucana plus as ‘activator’, as a desensitization me-thod for allergic persons.

Methods: Bibliographic search of specific manus-crupts from different reference sources.

Results: *In vitro* and *in vivo* studies show a poten-tial applicability of the method. However, many con-siderations could be pointed out: 1) glucan application in humans should be considered experi-mental; 2) up to now no association between glucan and allergy is really known; 3) glucan can act as sensitization agent and cause adverse reactions; 4) there are no references in literature concerning the ‘activator’ used in the me-thod analyzed.

Conclusions: The herein analyzed method should be confirmed in humans before its wide application as a desensitizing method. Others and more detailed stu-dies – mainly randomized, double-blind, and humane specific studies, are quite necessary to state safe and desensitizing applicability of such therapy.

Rev. bras. alerg. imunopatol. 2002; 25(6): 200-203 activated immunotherapy, glucan, zymosan, Saccha-romyces.

Objetivo

Avaliar a composição e utilização de extratos empregados em esquema de dessensibilização de indivíduos atópicos conhecido como “imunotera-pia ativada”.

Método

Foram avaliados estudos publicados em artigos especializados das seguintes referências: NCBI/ Medline (Medlars online Literatura Internacional da National Library of Medicine), Literatura Lati-no-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) e Biblioteca Cochrane.

Imunoterapia Ativada

O esquema de dessensibilização conhecido co-mo “imunoterapia ativada” (IA) tem sido utiliza-do em alguns serviços no Brasil, empregando-se extrato conjugado de “antígeno + β -D-glucana + ativador”. As aplicações são espaçadas, sugerindo esquema semelhante à “fase de manutenção” de esquemas clássicos de imunoterapia¹. Apesar dis-so, o tempo total de dessensibilização utilizado na IA demonstra ser semelhante ao da imunoterapia clássica e em torno de dois a três anos¹.

Sobre o componente β -D-glucana

O componente **β -D-glucana** ou mais especifi-camente (1-3)- β -glucana (e 1,6-glucana) é conhe-cido como o principal componente de um com-posto fúngico de nome **Zy-mosan**, retirado princi-palmente de fungos (leveduras e cogumelos). A principal espécie fúngica onde se encontra o Zy-mosan é a *Saccharomyces cerevisiae* (classe dos Ascomicetos).

Os β -glucanas foram identificadas há cerca de 40 anos como *agente modificador de resposta biológica*; e são capazes de estimular a rejeição tumoral ou microbial²⁻⁵. São compostos formados por número variável de agregados de moléculas de glicose. As ações dos β -glucanas sobre o siste-ma imunológico (SI) têm sido estudadas e apre-sentam-se consistentes em estudos *in vitro* e *in vi-vo*, não havendo estudos definitivos em seres hu-manos até o momento. Efeitos da substância so-bre o SI são:

- Ação sobre a via alternativa do complemento através do sistema da properdina⁶;
- Estudos demonstram que existem receptores de β -glucana em leucócitos (CR3 – Mac-1, CD11b/CD18); esses receptores também são receptores de ligação para iC3b (sistema com-plemento), ICAM-1 (molécula de adesão) e fibrinogênio, além de outros polissacarídeos conjugados à manose ou à glicose^{2,7}. A liga-ção aos receptores é cálcio-dependente devido a ação primária na enzima proteinoquinase C (PCK)⁸. Além disso, a própria molécula de β -glucana poderia ligar-se a outras moléculas de carboidratos⁹;
- Aumento de citocinas como fator de necrose tumoral (TNF-alfa), interleucinas (IL-1, IL-2, IL-4, IL-6), interferon γ (INF-g), fatores de es-timulação de colônias (CSFs), etc^{4,10,11}. Al-guns estudos no entanto não demonstraram al-teração nos níveis de citocinas, exceto por au-mentos isolados¹⁴;
- Produção de anticorpos da classe IgG em co-baias após imunização com zymosan, de-monstrando portanto atividade antigênica¹²;
- Aumento da atividade fagocitária de monóci-tos/macrófagos e neutrófilos^{5,13};
- Estimulação da síntese de óxido nítrico (NO) *in vivo* por mecanismo mediado por IFN- γ ³.

Zy-mosan

A substância **Zy-mosan** é derivada da parede ce-lular de leveduras, sendo constituída sobretudo de complexos formados por proteínas e carboidratos. Demonstra ação no organismo (estudo em co-baias) de aumento de defesa específica através de uma atuação no sistema da properdina (via alter-nativa do sistema complemento); também apre-senta ação sobre a agregação plaquetária⁶.

Estudos demonstram uma intensa ligação do zymosan a proteínas plasmáticas, podendo per-manecer no corpo (fígado e baço) por período prolongado¹⁵. Devido a essa ligação, suas ações (como aumento de citocinas e atividade anti-tumoral) estiveram significativamente diminuídas quando analisadas em ensaio *in vitro*.

Toxicidade

A ocorrência de toxicidade no uso de β -glucana já foi observada. Yoshioka *et al* demonstraram efeito tóxico fatal em camundongos quando do uso de várias formas da substância β -glucana (a-plicação intraperitoneal) associada ao antiinflamatório indometacina por via oral¹⁰. As cobaias do grupo de estudo apresentavam níveis séricos de INF-gama, IL-6 e CSFs significativamente elevados. Sugerem os autores que a letalidade ocorrida foi decorrente de um desequilíbrio na rede de citocinas.

Gordon *et al* observaram em estudos fase I e II, em humanos, a ocorrência de efeitos colaterais graves como reação anafilactóide, elevação de enzimas hepáticas e granulocitopenia, quando da administração endovenosa do 1,3 glucana em velocidade de infusão menor que 30 minutos¹⁶.

Discussão

O presente estudo avaliou a bibliografia existente e mais atual do componente da 'imunoterapia ativada' conhecido como β -D-glucana. Esse esquema de imunoterapia utiliza dois outros componentes, a saber: 1) antígeno propriamente dito, e que é variável para cada extrato (sobretudo ácaros das famílias *Pyroglyphidae* e *Glycyphagidae*, em alergias respiratórias); 2) 'ativador' – não se conseguiu informações mais detalhadas sobre esse componente. O produto pode ser um *adjuvante* como o $Al(OH)_3$, Adjuvante de Freund¹⁷, ou um produto necessário para a 'ativação' da β -D-glucana. Na literatura não se observam referências a tal produto, não sendo necessária a adição de outras substâncias para a ocorrência de efeito da glucana.

Trata-se portanto de um extrato misto. Segundo estudos atuais, o ideal na imunoterapia moderna será a utilização de esquema de monoterapia com extrato antigênico único sem adição de outros antígenos. Como a glucana predispõe a produção de anticorpos, também apresenta atividade antigênica¹².

Além disso, a utilização da glucana em seres humanos ainda deve ser considerada experimental. Apesar de algumas referências relatarem a atividade *in vitro* e *in vivo* do β -D-glucana e apesar do produto poder ser encontrado no mercado para uso oral (retirado de cogumelos como o 'Cogumelo do Sol' – *Agaricus sp.* (sobretudo *A. blazei*) – família *Agaricaceae*, classe dos basidiomicetos¹⁸⁻²⁰, pouco se conhece sobre o seu efeito no ser humano, principalmente por administração parenteral – via essa utilizada na IA.

Não se conhece a relação entre a glucana e a alergia. Estudos utilizando outros compostos polissacarídicos – como os dextrans, demonstram que a sensibilização a moléculas polissacarídicas como o dextran 70 (Solução de Hyskon) existe e pode desencadear reações diversas, inclusive anafiláticas^{21,22}.

Assim, a possibilidade de ocorrência de tais alterações (inclusive sensibilização tardia – tipo IV) também com a utilização dos glucanas é concreta e deve ser avaliada e devidamente estudada^{23,24}. Não existe, no entanto, estudos definitivos em seres humanos analisando a sensibilização a essa substância.

A droga ainda apresenta-se como experimental, havendo alguns estudos de fase I, II e até fase III em humanos. No entanto, as conclusões ainda não são completas e os efeitos colaterais existem. Gordon *et al* em estudo fase I/II, observaram efeitos que variaram até reações anafilactóides, granulocitopenia e aumento de enzimas hepáticas após administração de β -glucana por via endovenosa¹⁶. Todas as reações melhoraram após a suspensão do medicamento e estavam resolvidas em 24 horas.

Conclusão

Seu uso em humanos ainda não se encontra padronizado e portanto deve ser considerada como terapia experimental. O potencial terapêutico existe, mas não se conhece se o risco/benefício da substância justifica o seu uso. Deve-se estabelecer critérios iniciais de pesquisa, submissão a Comitês de Ética em Pesquisa Clínica, etc para uma posterior reavaliação e possível utilização/comercialização.

Referências bibliográficas

1. Mendes E. Alergia no Brasil. Ed Manole, São Paulo, 1989.
2. Yan J, Vetvicka V, Xia Y, Coxon A, Carroll MC, Mayadas TN, *et al*. Beta-glucan, a "specific" biologic response modifier

- that uses antibodies to target tumors for cytotoxic recognition by leukocyte complement receptor type 3 (CD11b/CD18). *J Immunol*, 1999;163:3045-3052.
3. Ohno N, Egawa Y, Hashimoto T, Adachi Y, Yado-mae T. Effect of beta-glucans on the nitric oxide synthesis by peritoneal macrophage in mice. *Biol Pharm Bull*, 1996;19:608-612.
 4. Estrada A, Yun CH, Van Kessel A, Li B, Hauta S, Laarveld B. Immunomodulatory activities of oat beta-glucan in vitro and in vivo. *Microbiol Immunol*, 1997;41:991-998.
 5. Mork AC, Helmke RJ, Martinez JR, Michalek MT, Patchen ML, Zhang GH. Effects of particulate and soluble (1-3)-beta-glucans on Ca²⁺ influx in NR8383 alveolar macrophages. *Immunopharmacology*, 1998;40:77-89.
 6. Budavari S [Editor]. *The Merck Index*. Merck & CO., Inc, 20th Edition, 1996.
 7. Thornton BP, Vetvicka V, Pitman M, Goldman RC, Ross GD. Analysis of the sugar specificity and molecular location of the beta-glucan-binding lectin site of complement receptor type 3 (CD11b/ CD18). *J Immunol*, 1996;156:1235-1246.
 8. Mork AC, Sun X, Liu X, Rodriguez D, Martinez JR, Castro R, *et al*. Regulation of (1-3)-beta-glucan-stimulated Ca(2+) influx by protein kinase C in NR8383 alveolar macrophages. *J Cell Biochem*, 2000;78:131-140.
 9. Mikhalchik EV, Shiyan SD, Bovin NV. Carbohydrate-carbohydrate interaction: zymosan and beta-glucan from *Saccharomyces cerevisiae* bind mannosylated glycoconjugates. *Biochemistry (Mosc)*, 2000;65:494-501.
 10. Yoshioka S, Ohno N, Miura T, Adachi Y, Yado-mae T. Immunotoxicity of soluble beta-glucans induced by indomethacin treatment. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 1998;21:171-179.
 11. Young SH, Ye J, Frazer DG, Shi X, Castranova V. Molecular mechanism of tumor necrosis factor-alpha production in 1-->3-beta-glucan (zymosan)--activated macrophages. *J Biol Chem*, 2001;276: 20781-20787.
 12. Miura T, Ohno N, Miura NN, Adachi Y, Shimada S, Yado-mae T. Antigen-specific response of murine immune system toward a yeast beta-glucan preparation, zymosan. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 1999;24:131-139.
 13. Taketomi EA, Freire CAR, Moura NC, Harima HA, Longo IM, Mendes NF. Effect of glucan immunotherapy on monocyte phagocytic activity and delayed hypersensitivity skin tests in patients with carcinoma. *Rev. bras. alerg. imunopatol.*, 1996;19: 29-35.
 14. Browder W, Williams D, Pretus H, Olivero G, Enrichens F, Mão P, *et al*. Beneficial effect of enhanced macrophage function in the trauma patient. *Ann Surgery*, 1990;211:612-613.
 15. Miura T, Ohno N, Miura NN, Shimada S, Yado-mae T. Inactivation of a beta-glucan by proteins in plasma and serum. *Biol Pharm Bull*. 1997;20: 1103-1107.
 16. Gordon M, Bihari B, Goosby E, Goster R, Greco M, Guralnik M, *et al*. A placebo-controlled trial of the immune modulator, lentinan, in HIV-positive patients: a phase I/II trial. *J Med*, 1998;29:305-330.
 17. Cook JA, Holbrook TW. Immunogenicity of soluble and particulate antigens from *Leishmania donovani*: effect of glucan as an adjuvant. *Infect Immun*, 1983;40:1038-1043.
 18. Joly AB. *Botânica*. Cia Editora Nacional. São Paulo, 12^a edição, 1998.
 19. <http://www.cogumelos.hpg.ig.com.br/index.html>
 20. <http://www.cuestaagaricus.com.br/>
 21. Novey HS, Pahl M, Haydik I, Vaziri ND. Immunologic studies of anaphylaxis to iron dextran in patients on renal dialysis. *Ann Allergy*, 1994;72: 224-228.
 22. Perlitz Y, Oettinger M, Karam K, Lipshitz B, Simon K. Anaphylactic shock during hysteroscopy using Hyskon solution: care report and review of adverse reactions and their treatment. *Gynecol Obstet Invest*, 1996;41:67-69.

23. Wan GH, Li CS, Guo SP, Rylander R, Lin RH. An airborne mold-derived product, beta-1,3-D-glucan, potentiates airway allergic responses. Eur J Immunol, 1999;29:2491-2497.

24. Perez HA, Bolivar J, San Blas G. The immuno-modulatory effect of yeast glucan on delayed hypersensitivity. J Immunopharmacol, 1984;6:305-321.

Endereço para correspondência

Celso Henrique de Oliveira
Av. Orozimbo Maia, 570/51
13023-001 - Campinas - SP
Tel.: 19-3233.5319
Fax: 19-3236.5759
E-mail: oliveira_ch@terra.com.br

[\[Home Page SBAI\]](#) [\[Índice Geral\]](#) [\[Índice do Fascículo\]](#)

A Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia é publicação oficial da Sociedade Brasileira de Alergia e Imunopatologia.
Copyright 2001- SBAI -Av. Prof. Ascendino Reis, 455 - São Paulo - SP - Brasil - CEP: 04027-000