

PREGLEDNI RAD/REVIEW

Funkcionalna svojstva polisaharida iz gljiva

Functional Properties of Mushroom Dietary Fibres

Irena Jeličić* i Katarina Lisak

Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Pierottijeva 6, 10000 Zagreb

Sažetak

Posljednjih desetljeća se prilikom razvoja nove hrane veliki naglasak stavlja na njezine fiziološke funkcije obzirom na sve veću brigu potrošača o zdravlju te sve češći odabir minimalno procesiranih namirnica. Tako je sve veće zanimanje i za konzumacijom gljiva i njihovih ekstrakata kojima se pripisuju brojni zdravstveni učinci među kojima je prvenstveno jačanje imunološkog sustava. Bez obzira na veliki broj dodataka prehrani na tržištu koji obećavaju povoljne učinke u borbi protiv različitih oboljenja i stanja, provedeno je vrlo malo kliničkih studija koje bi potkrjepljivale takve tvrdnje. Stoga je svrha ovog rada pružiti kratki pregled o znanstveno i klinički dokazanim zdravstvenim učincima polisaharida, kao najintenzivnije istraživanoj skupini bioaktivnih spojeva u gljivama.

Summary

In the past few decades much attention has been paid to physiological functions in the process of developing novel foods due to consumers' growing health concerns and to a frequent selection of the minimal processed food. Thus, there is a significant interest in the use of mushrooms and mushroom extracts based on opinions they possess many protective health effects and enhance immune function. Regardless the large number of dietary supplements present on the market, there is a paucity of scientific results obtained in clinical studies which would affirm health claims assigned to these products. Therefore the aim of this paper is to give a short review of scientific and clinically approved health benefits of fungal polysaccharides, the most extensively investigated bioactive constituents in mushrooms.

1. UVOD

Suvremeni potrošač je sve svjesniji utjecaja prehrane na kvalitetu života i zdravlje te stoga postavlja sve veće zahtjeve pri odabiru namirnica koje će konzumirati pa je sukladno tome razvijen i koncept funkcionalne hrane. Posljednja dva do tri desetljeća jednu od vodećih uloga u trendovima razvoja prehrambene industrije i tehnologije zauzimaju funkcionalni proizvodi sa prehrambenim vlaknima koja su pokazala sposobnost modifikacije crijevne mikroflore i poboljšanje zdravstvenog stanja domaćina. Među najintenzivnije istraživane prebiotike spadaju svakako inulin i oligosaharidi, no mnoštvo znanstvenih spoznaja o pozitivnim učincima prehrambenih vlakana na ljudski organizam, kao i veće znanje o točnom mehanizmu njihovog djelovanja, rezultiralo je potrebom za iznalaženjem novih izvora prehrambenih vlakana.

Gljive su vrlo dobar izvor prehrambenih vlakana obzirom da sadrže različite bioaktivne sastojke od kojih su ponajviše ispitivani ugljikohidrati poput hitina, hemiceluloze, glukana, ksilana i manana (Aida i sur., 2009). Osim toga poznato je kako se u tradicionalnoj istočnjačkoj medicini već stoljećima upotrebljavaju u svrhu terapije i liječenja različitih oboljenja.

2. GLAVNE KARAKTERISTIKE PREHRAMBENIH VLAKANA

2.1 Što su prehrambena vlakna?

Prehrambena vlakna podrazumijevaju sastojke koji potječu uglavnom iz staničnih stijenki biljnih stanica, a koje probavni enzimi ljudi i ostalih sisavaca ne mogu razgraditi. S druge strane, anaerobne bakterije nastanjene u debelom crijevu razgrađuju prehrambena vlakna svojim metaboličkim putovima (Anonymous 1, 18.11.2011.).

Pri tom je potrebno napomenuti kako prehrambena vlakna nisu nužno ograničena samo na dijelove staničnih stijenki

biljnih stanica, već zapravo obuhvaćaju heterogenu skupinu kemijskih spojeva poput celuloze, hemiceluloze, lignina, pektina, guma i polisaharida podrijetlom od morskih plodova i bakterija. Strukturnim polisaharidima pripadaju celuloza, hemiceluloza i pektini budući da su sastavni dijelovi staničnih stijenki; dok primjerice gume i polisaharidi morskih plodova (kara-genan, agar, alginati) kao i rezistentni škrob također pripadaju skupini prehrambenih vlakana iako nisu dijelovi staničnih stijenki biljnih stanica. Stoga postoje različite definicije dijetalnih vlakana, a najčešće se koristi iduća: „Prehrambena vlakna su oligosaharidi, polisaharidi i hidrofilni derivati koje probavni enzimi humanog probavnog sustava ne mogu razgraditi na sastojke koji se mogu apsorbirati u gornjem probavnom traktu“. Ova definicija uključuje i lignine (Thebaudin i sur., 1997).

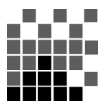
Neka prehrambena vlakna spadaju u kategoriju prebiotika koji su definirani kao „neprobavljivi sastojci hrane koji korisno djeluju na domaćina pomoću selektivne stimulacije rasta i/ili aktivnosti jedne bakterijske vrste ili ograničenog broja bakterijskih vrsta u debelom crijevu, i tako poboljšavaju zdravlje ljudi“ (Gibson i Roberfroid, 1995).

2.2 Metabolički putevi prehrambenih vlakana u ljudskom probavnom traktu

Prehrambena vlakna neprobavljiva ulaze u debelo crijevo gdje ih autohtona mikroflora Embden-Meyerhoffovim putem razgrađuje do piruvata koji se potom prevodi u krajnje proizvode poput kratkolančanih masnih kiselina (uglavnom acetati, butirati i propionati) i plinova (vodik, ugljikov (IV) dioksid, metan).

Fermentacija u debelom crijevu je učinkovit probavni proces u kojem se inače neprobavljivi ili slabo probavljivi nutrijenti poput alkoholnih šećera i fruktana gotovo potpuno razgrađuju, uz pretpostavku da unos tih nutrijenata nije previsok. Tako se više od polovice ukupno unesenih prehrambenih vlakana razgradi u debelom crijevu, dok se preostali dio

Corresponding author: irjelicic@pbf.hr



izlučuje putem stolice. Pri tome različiti čimbenici utječu na probavljivost i iskorištenje vlakana, a ponajviše topljivost. Tako su vlakna veće topljivosti lakše dostupna za razgradnju hidrolitičkim enzimima pa se i brže metaboliziraju, iako se primjerice alginati i karagenani koji također spadaju u topljiva vlakna vrlo slabo razgrađuju. Osim toga, na probavljanje vlakana također utječu crijevna peristaltika te individualne razlike u sastavu autohtone crijevne mikroflore. (FAO, 2007; Davidson i McDonald, 1998).

2.3 Utjecaj prehrambenih vlakana na zdravlje i preporučeni dnevni unosi

Brojna znanstvena i klinička istraživanja su pokazala kako je jedan od najvažnijih učinaka prehrambenih vlakana povoljno djelovanje na konstipaciju pri čemu fiziološko djelovanje ovisi o vrsti vlakna odnosno o njihovoj topljivosti. Netopljiva vlakna poput pšeničnih mekinja i celuloze povećavaju volumen i učestalost stolice te skraćuju vrijeme prolaza kroz crijevni trakt. Kapacitet vezanja vode je svojstvo prehrambenih vlakana važno za razumijevanje učinka povećanja fekalne mase što je uglavnom povezano s povećanjem mase bakterijskih stanica, neprobavljenim ostacima vlakana i fekalnom vodom, a nerijetko i s načinom pripreme hrane. Povećanjem fekalne mase se smanjuje koncentracija pojedinih sastojaka i vrijeme prolaza istih kroz crijevni trakt pa se smanjuje i intenzitet interakcija između stanica crijevne sluznice i potencijalnih kancerogenih sastojaka fecesa. Prema Willet i sur. neka vlakna mogu adsorbirati mutagene spojeve i time potaknuti njihovo izlučivanje putem fecesa. Vlakna žitarica su se pri tom pokazala učinkovitijim nego vlakna iz voća i povrća. Nasuprot tomu, topljiva vlakna poput pektina ne mijenjaju značajno procese unutar crijevnog trakta niti skraćuju vrijeme prolaza fecesa, a crijevna mikroflora ih u potpunosti razgrađuje (Thebaudin i sur., 1997).

Kako je već ranije spomenuto u tekstu, mogući produkti koji nastaju razgradnjom prehrambenih vlakana djelovanjem autohtone mikroflore u debelom crijevu su kratkolančane masne kiseline koje predstavljaju glavni izvor energije kolonocitima. Smanjene količine tih metabolita mogu nepovoljno utjecati na crijevni trakt te pogodovati patogenim procesima oštećenja crijevne sluznice, nastanka kolitisa ili čak raka debelog crijeva. Predloženi mehanizam zaštitnog djelovanja kratkolančanih masnih kiselina, poglavito maslačne, podrazumijeva ireverzibilno poboljšavanje imunogenih svojstva kolonocita. Takav učinak bi trebao biti dovoljan u sprječavanju nastanka degenerativnih promjena crijevne sluznice (Guillon i Champ, 2000).

Nadalje, neka istraživanja su pokazala kako prehrambena vlakna mogu utjecati i na prevenciju pojave raka dojke jer visok unos vlakana vjerojatno rezultira povećanim izlučivanjem estrogena putem fecesa (Thebaudin i sur., 1997).

Brojna istraživanja su pokazala kako topljiva vlakna također potencijalno snižavaju koncentraciju ukupnog kolesterola te koncentraciju LDL- kolesterola u krvi najvjerojatnije uslijed vezanja žučnih kiselina na prehrambena vlakna što izaziva promjene u metabolizmu kolesterola i njegovo izlučivanje iz organizma (Guillon i Champ, 2000).

Budući da utječu na smanjenje koncentracije kolesterola kojeg prenose LDL - lipoproteini, indirektno utječu i na prevenciju pojave kardiovaskularnih bolesti.

Preporučeni dnevni unos prehrambenih vlakana za žene u odrasloj dobi iznosi do 25 g/dan, a povećane

potrebe se javljaju u posebnim stanjima organizma poput trudnoće i laktacije, kad se penju i do 30 g/dan. Odraslim muškim osobama se preporuča unos do 38 g/dan (Trumbo i sur., 2002).

3. PREHRAMBENA VRIJEDNOST GLJIVA

U prirodi postoji preko 150000 različitih vrsta gljiva od čega je znanosti poznato i imenovano samo 10% (Wasser, 2010). Međutim samo otprilike 2000 vrsta se uzgajaju i kultiviraju u prehrambene svrhe. Gljive ne sadrže velike količine nutritivno vrijednih tvari, ali predstavljaju izvor raličitih nutrijenata pa ih je preporučljivo uključiti u svakodnevnu prehranu. Jestive gljive mogu biti saprofiti, simbiotički i paraziti, ali za rast im je uvijek potrebna odgovarajuća podloga u koju luče probavne enzime kako bi dobile sve potrebne hranjive tvari. Hranjive podloge pri tom mogu sadržavati različite sirovine poput slame, kukuruznih klipova, pamuka natopljenog vodom te različitih izvora dušika. Stoga je micelij gljiva (u vegetativnoj fazi) vrlo bitan za ekosustav budući da može razgraditi supstrat na kojem raste te na taj način koristi otpad nastao u poljoprivrednoj proizvodnji. Plodovi gljiva su vrlo cijenjeni ne samo zbog okusa i teksture već i kao izvor vrijednih kemijskih spojeva i nutraceutika (Manzi i sur., 1999; Manzi i sur., 2004; Aida i sur., 2009).

Kemijski sastav i kvaliteta gljiva ovise o nizu čimbenika poput načina uzgoja, supstrata korištenog za uzgoj, faze razvoja te uvjeta prije i nakon berbe. Stoga su unutar iste vrste moguće velike varijacije kvalitete.

Vrlo bitno svojstvo jestivih gljiva jest kratak rok trajanja koji se kreće od jednog do tri dana, a uzrokovan je promjenama koje se odvijaju nakon berbe. Spomenute promjene su pak povezane s visokim udjelom vode i visokom aktivnošću enzima poput proteaza i polifenol-oksidaaza odgovornih za razgradnju proteina i šećera te reakcije posmeđivanja (Czapski i Szudyga, 2000).

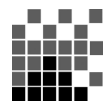
Manzi i sur. (1999, 2001, 2004) su usporedili kemijski sastav ovih vrsta gljiva: *Agaricus bisporus* (plemenita pečurka ili šampinjon), *Boletus sp* (vrganj), *Pleurotus ostreatus* (bukovača ili bukova krivonoška), *Pleurotus pulmonarius* (ljetna bukovača), *Pleurotus eryngii* (poljska krivonoška) i *Lentinula edodes* (Shiitake) (Crveni popis gljiva, Hrvatski mikološko gljivarski savez, 2005). Prosječne vrijednosti za pojedine ispitivane parametre su dane u tablici 1.

Najzastupljenija mineralna tvar u gljivama je kalij čija količina na 100 g suhih gljiva može iznositi i do 3,5 g. S druge

Tablica 1. Prosječan kemijski sastav najčešće uzgajanih jestivih gljiva (Manzi i sur., 1999, 2001, 2004).

Table 1. Average chemical composition of the most common edible mushrooms (Manzi et al., 1999, 2001, 2004.)

Parametar/Parameter	Količina g/100g jestivog dijela Content g/100g edible matter
Vlaga / Moisture	67,2 – 91,5
Ugljikohidrati / Carbohydrates	5,9 - 21,6
Proteini/ Proteins	5,3 - 5,4
Masti / Fat	0,6 – 1,5
Pepeo /Ash	0,5 – 2,0



strane, natrij je prisutan u vrlo malim količinama što gljive čini pogodnima za prehranu ljudi koji pate od hipertenzije (Manzi i sur., 2004). Gljive mogu akumulirati i teške metale poput žive, olova, kadmija, arsena, bakra, i to ponekad u količinama koje nisu zanemarive, kako je Demirbaş (2001) dokazao svojim istraživanjem na 21 vrste s područja oko Crnog mora.

Gljive su također dobar izvor nekih bioaktivnih sastojaka poput antioksidansa kao što su razni fenoli, karotenoidi, flavonoidi i askorbinska kiselina pri čemu su fenolni spojevi količinski najzastupljeniji. Osim toga, u pojedinim vrstama su pronađene i značajne količine tokoferola, te nezasićenih masnih kiselina (Barros i sur., 2008, Manzi i sur., 2004).

Od ugljikohidrata su količinski najzastupljeniji polisaharidi škrob i hitin, a u manjim količinama trehaloza i manitol. U nekim vrstama se, međutim, u malim količinama javljaju još maltoza i melicitoza. Budući da sadrže ugljikohidrate poput hitina, hemiceluloze, α - i β -glukana, manana, ksilana i galaktana, gljive se smatraju dobrim potencijalnim izvorom dijetalnih vlakana.

Prehrambena vlakna se mogu nalaziti u udjelu do čak 12,5% pa tako 100 g toplinski obrađenih gljiva može zadovoljiti oko 32% ukupne dnevne potrebe za prehrambenim vlaknima. Pri tom su β -glukani i hitin najviše spominjana i istraživana vlakna, a njihovi udjeli uvelike variraju što ovisi o vrsti gljiva te načinu obrade. Hitin je polisaharid netopljiv u vodi koji predstavlja 80-90% suhe tvari staničnih stijenki gljive, a budući da se ne može probaviti u ljudskom probavnom traktu igra važnu ulogu kao prehrambeno vlakno. Međutim, većina fungalnih polisaharida su linearni ili razgranati glukani s različitim glikozidnim vezama poput $\beta(1, 3)$ - i $\beta(1, 6)$ - glukana te $\alpha(1, 3)$ - glukana. Osim toga, neki od njih su heteroglikani te kao osnovne sastojke bočnih lanaca imaju vezane šećere poput arabinoze, manoze, fukoze, galaktoze, ksiloze, glukoze i glukuronske kiseline. Unatoč vrlo raznolikoj kemijskoj strukturi, većina fungalnih polisaharida su ipak β -glukani pa se njihov udio kreće u prosjeku oko 415,5 mg/100 g i predstavlja oko 4,8% sveukupnih vlakana. S druge strane, udio hitina varira između 0,6 g i 3,2 g/100 g jestivog dijela što predstavlja od 9,1 do 26,0 % ukupnih prehrambenih vlakana (Manzi i sur., 2001, 2004; Aida i sur., 2009). Obzirom da se u ljudskom organizmu ne mogu probaviti, prehrambena vlakna iz gljiva mogu se uzeti u obzir kao potencijalni prebiotici. Međutim, potrebno je provesti niz znanstvenih istraživanja kojima bi se taj status potvrdio, budući da je poznato kako nisu sva prehrambena vlakna prebiotici. Tako je istraživanje koje su proveli Synytsya i sur. (2008) potvrdilo da ekstrakti gljiva *Pleurotus ostreatus* i *Pleurotus eryngii* selektivno potiču rast određenih sojeva probiotičkih bakterija (Aida i sur., 2009).

4. ZDRAVSTVENA VRIJEDNOST POLISAHARIDA GLJIVA

Gljive se ne koriste samo kao izvor hranjivih tvari već i kao medicinski dodatak prehrani. Zdravstvena vrijednost gljiva potvrđena je brojnim znanstvenim istraživanjima, a poznato je kako se iste upotrebljavaju u tradicionalnoj kineskoj medicini preko 2000 godina. Bioaktivni sastojci gljiva se vrlo često izoliraju i uključuju u sastav različitih prehrambenih proizvoda u svrhu poboljšanja njihove biološke vrijednosti (Aida i sur., 2009).

U bioaktivne sastojke gljiva se ubrajaju sastojci poput polisaharida, glikoproteina, antioksidanasa i triterpena. Međutim, provedena znanstvena istraživanja najviše su se bavila ispitivanjem povoljnih učinaka polisaharida odnosno prehrambenih vlakana podrijetlom iz gljiva (Wasser, 2002).

1.1. Utjecaj β -glukana i ostalih fungalnih polisaharida na metabolizam lipida i kardiovaskularne bolesti

Kardiovaskularne bolesti čine najčešće uzrok smrtnosti u razvijenim zemljama te zemljama u razvoju. Na pojavu ove skupine oboljenja najčešće utječu nepravilna prehrana te poremećaji koje ona ima za posljedicu kao što su primjerice promjena u metabolizmu masti i lipoproteina, oksidativna oštećenja, promjene u metabolizmu homocisteina te promjene krvnog tlaka. Tradicionalna istočnjačka medicina je gljive uvriježeno propisivala kao terapiju budući da je njihov hipokolesterolemijski učinak bio dobro poznat (Gullamon i sur., 2010).

Gljive sadrže mnoge korisne funkcionalne sastojke i to prvenstveno β -glukane te homo- i heteroglukane s $\beta(1, 3)$ -, $\beta(1, 4)$ - i $\beta(1, 6)$ -glikozidnim vezama kojima se pripisuju spomenuti zdravstveni učinci (Manzi i Pizzoferrato, 2000).

Naime, topljiva prehrambena vlakna, poput glukana, u probavnom traktu formiraju viskozne gelove što potiče veće izlučivanje žučnih kiselina i kratkolančanih masnih kiselina fecesom. Time se sprječava ugradnja acetata, supstrata za sintezu sterola i masnih kiselina, u serumske lipide. Vrste *Auricularia auricula - judae* (Judino uho) i *Tremella fuciformis* (srebrna drhtalica, kin. Yin Er) (Crveni popis gljiva, Hrvatski mikološko gljivarski savez, 2005) se odlikuju izrazito visokim sadržajem prehrambenih vlakana te je dokazano kako snižavaju koncentraciju LDL-kolesterola u krvi, dok ne utječu na koncentraciju HDL-kolesterola (Gullamon i sur., 2010).

Osim toga, gljive sadrže i ostale polisaharide poput hitina i kitozana koji pokazuju slične učinke na koncentraciju kolesterola u krvi kao i skupina glukana. Tako su Neyrinck i sur. (2009) u prehranu pretelih miševa uvrstili dodatak prehrani na bazi kitozana dobivenog iz šampinjona (*Agaricus bisporus*) u trajanju od 10 tjedana te ispitivali koncentraciju lipida i adipocitokina u krvi. Rezultati istraživanja su pokazali kako se koncentracija ispitivanih parametara u krvi smanjila što bi direktno moglo utjecati na snižavanje koncentracije lipida deponiranih u jetri i mišićnom tkivu te na redukciju količine masnog tkiva.

Slične rezultate su dobili i Fukushima i sur. (2001) koji su ispitivali utjecaj prehrane prehrambenim vlaknima iz vrste *Agaricus bisporus* (šampinjon) na koncentraciju serumskih lipoproteina u krvi miševa. Rezultati su pokazali kako je koncentracija lipoproteina VLDL (engl. *very low-density lipoproteine*), IDL (engl. *intermediate-density lipoproteine*) i LDL (engl. *low-density lipoproteine*) puno niža u krvi miševa hranjenih prehrambenim vlaknima iz gljiva nego u kontrolnoj grupi hranjenoj celulozom, dok je suprotno dobiveno za koncentracije mRNA receptora za LDL u jetri. Time je ova skupina znanstvenika zaključila kako prehrana bogata prehrambenim vlaknima podrijetlom iz šampinjona može značajno sniziti koncentraciju kolesterola u krvi povećanjem koncentracije jetrenog mRNA receptora za LDL.

U današnje vrijeme se izolati kitozana dobivenog iz gljiva nalaze na tržištu i prodaju kao dodatak prehrani namijenjen osobama s prekomjernom tjelesnom masom i povišenom koncentracijom kolesterola u krvi (Notification list EC, 2007).

4.2. Antitumorska, antikancerogena i imunomodulacijska aktivnost fungalnih polisaharida

Uloga i važnost polisaharida u borbi protiv zloćudnih oboljenja poznata je već više od 100 godina, a 1960. godine skupina znanstvenika je iz gljiva izolirala različite polisaharide s jakim antitumorskim djelovanjem. Za razliku od konvencionalnih antitumorskih lijekova, ovi sastojci djeluju na način da aktiviraju različite imunološke odgovore u domaćinu i ne uzrokuju nikakva sustavna oštećenja organizma (Zhang i sur., 2007).



Bioaktivni polisaharidi se mogu izolirati iz gljiva u različitim životnim stadijima kao što su micelij, plodno tijelo i sekundarni micelij (sklerocij). Pri tome polisaharidi s antitumorskom aktivnošću podrazumijevaju skupinu kiselih i neutralnih molekula s različitim vrstama glikozidnih veza, dok su neki vezani na proteine i peptide poput polisaharid-protein odnosno polisaharid-peptid kompleksa (PPK). Također je potrebno napomenuti kako fungalni polisaharidi s antitumorskim djelovanjem podrazumijevaju skupinu glukana, dok hitin i kitozan do sad nisu pokazali ovakav tip djelovanja (Wasser, 2002, Zhang i sur., 2007).

Za antitumornu aktivnost je osim primarne strukture vrlo bitna i sekundarna struktura polisaharida i to prvenstveno konformacija lanca. Upravo zbog nepoznavanja točne konformacije lanaca, polisaharide su vrlo često klasificira kao nespecifične bioaktivne komponente s nerazjašnjenim mehanizmima djelovanja (Wasser, 2002).

Međutim, unatoč velikim konfiguracijskim razlikama, poznate su određene poveznice između strukture i antitumorske aktivnosti. Tako je primjerice ustanovljeno da su za antitumorsko djelovanje potrebne $\beta(1, 3)$ -glikozidne veze u glavnom lancu te dodatne $\beta(1, 6)$ -veze u bočnim lancima. β -glukani koji sadrže većinom $\beta(1, 6)$ -glikozidne veze pokazuju manju antitumorsku aktivnost, a isto vrijedi i za niskomolekularne glukane. Osim toga, razlike u antitumorskoj aktivnosti su povezane i s topljivošću u vodi, stupnju razgranatosti molekule i prostornoj konfiguraciji. Nadalje, antitumorski polisaharidi mogu imati i drukčije kemijske strukture poput heteroglukana, heteroglikana, β -glukan-protein kompleksa, α -mano- β -glukana, α -glukan-protein kompleksa i heteroglikan-protein kompleksa (Kawagishi i sur. 1990, Wasser, 2002).

Također se pretpostavlja kako fungalni polisaharidi koji u svom sastavu imaju glukozu i manozu pokazuju antitumorsko djelovanje obzirom da su na humanim makrofagima pronađeni polisaharidni receptori s visokom specifičnošću za ta dva šećera (Zhang i sur., 2007).

Dosad su najintenzivnije istraživani antitumorski učinci β -glukana lentinana podrijetlom iz vrste *Lentinula edodes* (Shiitake), šizofilan podrijetlom iz vrste *Schizophyllum commune* (obična dvolisnica), grifolan iz vrste *Grifola frondosa* (zečarka, jap. maitake) i SSG polisaharid iz vrste *Sclerotinia sclerotiorum* (bijela trulež) (Crveni popis gljiva, Hrvatski mikološko gljivarski savez, 2005). Fungalni polisaharidi su pokazali antitumorsko djelovanje prema više od 180 različitih vrsta raka uključujući primjerice tipove sarkom 37, Yoshida sarkom i Lewisov plućni karcinom (Wasser i Weiss, 1999).

Pretpostavljeni mehanizam antitumorskog djelovanja fungalnih polisaharida uključuje tri različite vrste učinaka:

- 1.) Prevencija procesa karcinogeneze oralnom aplikacijom polisaharida izoliranih iz ljekovitih gljiva;
- 2.) Stimulacija imuniteta u borbi protiv zloćudnih tumora;
- 3.) Izravno antitumorsko djelovanje uz izazivanje apoptoze (programirane smrti) stanica tumora (Zhang i sur., 2007).

Preventivno djelovanje fungalnih polisaharida u razvoju karcinoma pokazalo se najbolje na populaciji brazilskih i japanskih farmera koji se bave uzgojem ljekovitih gljiva poput vrste *Flammulina velutipes* (Baršunasta panjevčica) i *Agaricus blazei* (Božja gljiva) (Crveni popis gljiva, Hrvatski mikološko gljivarski savez, 2005) te iste redovito konzumiraju. Smrtnost uzrokovana karcinogenim oboljenjima u ovoj skupini populacije bila je 40% manja nego u ostatku populacije. Također je provedena studija na miševima podijeljenim u dvije testne skupine od kojih je jedna hranjena uobičajenom prehranom (kontrolna skupina), a u prehranu druge skupine su uvršteni

polisaharidi izolirani iz spomenutih vrsta gljiva. Potom su obje skupine miševa inokulirane tumorskim stanicama te je praćena pojavnost tumorskih oboljenja u obje skupine miševa. Na kraju istraživanja se pokazalo kako je pojava zloćudnih tumora bila znatno manja u skupini hranjenoj polisaharidima nego u kontrolnoj skupini (Zhang i sur., 2007).

Mnogi fungalni polisaharidi također pokazuju sposobnost poticanja imunološkog odgovora i poboljšanja imuniteta domaćina. Djelovanje većine fungalnih polisaharida je testirano inokulacijom tumorskih stanica u miševu i praćenjem veličine tumora, vremena preživljavanja oboljelih jedinki te brojem jedinki u kojih se tumor potpuno povukao. Polisaharidi su pri tom miševima injektirani u trbušnu maramicu ubrzo nakon razvoja tumora. Rezultati provedenih istraživanja su vrlo obećavajući i optimistični budući da se pokazalo kako ti polisaharidi uzrokuju smanjenje tumora za više od 50 % te znatno produžuju životni vijek miševa oboljelih od zloćudnih bolesti. Primjerice, lentinan je u testiranim životinjama prouzročio smanjenje veličine tumora za 90 %, što je u konačnici većinom rezultiralo i potpunim povlačenjem iz organizma. Nadalje, klinička ispitivanja na ljudima oboljelima od karcinoma su pokazala kako je najučinkovitije djelovanje lentinana kad se primjenjuje prije početka kemoterapije u pacijenata koji imaju primarne lezije i u prošlosti nisu primali nikakvu kemoterapiju. Terapija lentinanom je rezultirala vrlo dobrim učincima vezanim uz produljenje očekivanog životnog vijeka, povlačenje tumora ili lezija te poboljšanje imunološkog odgovora kod oboljelih od karcinoma dojke, debelog crijeva i želuca te ostalih organa trbušne šupljine. Sukladno tomu, ovaj polisaharid se godinama uspješno koristi kao lijek i dodatak prehrani u liječenju kancerogenih oboljenja u Japanu i drugim zemljama Dalekog istoka, ali i u SAD-u te Europi (Wasser, 2002; Daba i Ezeronye, 2003).

Rezultati mnogih istraživanja ukazuju kako antitumorska aktivnost ovih polisaharida ovisi o imunološkom odgovoru vezanom za procese koji se odvijaju u timusu te da se također mogu povezati s povećanjem broja i/ili aktivnosti makrofaga i T-limfocita (Borchers i sur., 2004; Zhang i sur., 2007).

Krestin (polisaharid Kureha) te PSP (Yun Zhi polisaharidopeptid) spadaju u novu generaciju modulatora biološkog odgovora organizma, a sastoje se od proteina vezanog na polisaharid koji sadrži $\beta(1,3)$ -glikozidne veze. Oba polisaharida izolirana su iz vrste *Trametes versicolor* (šarena tvrdokoška, engl. Turkey tail, kin. Yun Zhi, jap. Kawaratake) te se uspješno koriste u terapiji tumorskih oboljenja te u svrhu poboljšanja imuniteta (Wasser i Weis, 1999).

Tako je dokazano da polisaharidopeptid (PSP) izoliran iz vrste *Trametes versicolor* potiče proizvodnju interferona i stanica T-limfocita koji sudjeluju u imunološkom odgovoru organizma. Iz PSP-a je pri tom proizveden i izoliran peptid molekulske mase oko 18 kDa koji se pokazao vrlo učinkovitim u terapiji pacijenata oboljelih od raka grkljana, želuca i pluća time što je uzrokovao smanjenje intenziteta nuspojava kemoterapije i terapije zračenja te spriječio slabljenje imuniteta tijekom istih (Ng, 1998).

Stoga se za potrebe kliničkih tretmana zloćudnih oboljenja još uvijek primjenjuju izolirani polisaharidi i njihovi konjugati. Pri tom se misli na fungalne polisaharide kao što su šizofilan, lentinan, grifolan, krestin (kompleks polisaharida i peptida) te PSK (polisaharid-protein kompleksi). PSK je registrirala i komercijalizirala tvrtka *Kureha Chemicals* iz Japana još davne 1977. godine, a do 1985. godine je dospio do devetnaestog mjesta na listi najprodavanijih lijekova u svijetu. Otprilike 10 godina nakon plasiranja PSK na tržište, javlja se PSP, srodan nutraceutik također izoliran iz vrste *Trametes versicolor*. PSP se danas prodaje u obliku tableta, kapsula samljevane biomase, sirupa, prehrambenih dodataka i čajeva (Lull i sur., 2005).



Han i sur. (2010) su iz vrste *Sarcodon aspratus* (Berk.) S. Ito. izolirali β -glukan naziva HPB i testirali njegov utjecaj na imunološki odgovor u organizmu miševa. Pri tom su dobiveni rezultati pokazali kako ovaj β -glukan stimulira proizvodnju limfocita te posjeduje visoki potencijal za primjenu kao sastojak funkcionalne hrane u borbi protiv patogena i tumora.

Furne je proveo kliničko ispitivanje u Japanu na 367 pacijenata oboljelih od inoperabilnog karcinoma želuca. Pri tome se pokazalo kako šizofilan (engl. schizophyllan), polisaharid izoliran iz vrste *Schizophyllum commune*, u kombinaciji s kemoterapijom povoljno utječe na povećanje stope preživljavanja, a slični rezultati su dobiveni i u kliničkim studijama na pacijentima oboljelim od raka u predjelu glave i vrata (Daba i Ezeronye, 2003). Okamura i sur. (1989) su dokazali kako šizofilan u kombinaciji s terapijom zračenjem znatno pridonosi povećanju stope preživljavanja u pacijentima oboljelih od raka

grlića maternice u drugom stadiju razvoja. Nadalje, Miyazaki i sur. su proveli studiju na 312 ispitanika oboljelih od kancerogenih bolesti i podvrgnutih nekoj od uobičajenih terapija poput kirurških tretmana, zračenja i kemoterapije u kombinaciji sa šizofilanom te su postignuti učinci uspoređivani s kontrolnom skupinom koja nije primala šizofilan. Rezultati su ukazali kako je puno veća stopa preživljavanja zabilježena u skupini pacijenata koji su primali šizofilan (Daba i Ezeronye, 2003).

Izravnu inhibiciju rasta stanica tumora su pokazali mnogi fungalni polisaharidi iako točan mehanizam djelovanja nije razjašnjen. Međutim, pretpostavlja se kako polisaharidi vjerojatno ometaju ekspresiju signala ukoliko se nađu unutar tumorske stanice, što rezultira zaustavljanjem staničnog ciklusa i poticanjem njihovog odumiranja (Zhang, 2007).

Chow i sur. (2003) su dokazali kako PSP kompleks izoliran iz vrste *Trametes* (ili *Coriolus*) *versicolor* značajno sman-

Tablica 2. Primjeri različitih vrsta antitumorskih i imunostimulirajućih polisaharida podrijetlom iz viših gljiva (Wasser, 2002)

Table 2. Overview of different antitumor and immunostimulating fungal polysaccharids. (Wasser, 2002)

Polisaharid / Polysaccharide	Vrsta iz koje potječe / Species of origin
$\alpha(1,3)$ -glukan <i>$\alpha(1,3)$-glucan</i>	<i>Armillariella tabescens</i> (grmača, čupava grmača)
$\beta(1,3)$, $\beta(1,4)$, $\beta(1,6)$ -glukan <i>$\beta(1,3)$, $\beta(1,4)$, $\beta(1,6)$-glucan</i> $\alpha(1,4)$, $\alpha(1,6)$ -glukan <i>$\alpha(1,4)$, $\alpha(1,6)$-glucan</i>	<i>Agaricus blazei</i> (božja gljiva)
$\beta(1,3)$, $\beta(1,6)$ -glukan <i>$\beta(1,3)$, $\beta(1,6)$-glucan</i>	<i>Grifola frondosa</i> (zečarka, jap. maitake)
$\beta(1,3)$ -glukuronoglukan <i>$\beta(1,3)$ glucuronoglucan</i>	<i>Ganoderma lucidum</i> (hrastova sjajnica, jap. Reishi, kin. Ling Zhi)
manoksiloglukan <i>mannoxyloglucan</i>	<i>Grifola frondosa</i> (zečarka, jap. maitake)
galaktoksiloglukan <i>galactoxyloglucan</i>	<i>Hericium erinaceus</i> (lavlja griva)
ksiloglukan <i>xyloglucan</i>	<i>Grifola frondosa</i> (zečarka, jap. maitake) <i>Polyporus confluens</i> (žemljasta rupičarka) <i>Pleurotus pulmonarius</i> (mekana krivonoška)
ksilogalaktoglukan <i>xylogalactoglucan</i>	<i>Inonotus obliquus</i> (brezova gljiva)
manogalaktoglukan <i>mannogalactoglucan</i>	<i>Pleurotus pulmonarius</i> (mekana krivonoška), <i>Pleurotus cornucopiae</i> , <i>Ganoderma lucidum</i> (hrastova sjajnica, jap. Reishi, kin. Ling Zhi), <i>Agaricus blazei</i> (božja gljiva)
galaktomanoglukan <i>galactomannoglucan</i>	<i>Flammulina velutipes</i> (baršunasta panjevčica) <i>Hohenbuehelia serotina</i> <i>Leucopaxillus giganteus</i> (golema podvijenka)
arabinoglukan <i>arabinoglucan</i>	<i>Ganoderma tsugae</i>
riboglukan <i>riboglucan</i>	<i>Agaricus blazei</i> (božja gljiva)
arabinogalaktan <i>arabinogalactan</i>	<i>Pleurotus citrinopileatus</i> (brestovača)
glukogalaktan <i>glucogalactan</i>	<i>Ganoderma tsugae</i>
fukogalaktan <i>fucogalactan</i>	<i>Sarcodon aspratus</i>
manogalaktan <i>mannogalactan</i>	<i>Pleurotus pulmonarius</i> (mekana krivonoška)
manogalaktofukan <i>mannogalactofucan</i>	<i>Grifola frondosa</i> (zečarka, jap. maitake)
ksilan <i>xylan</i> glukoksilan <i>glucoxylan</i>	<i>Hericium erinaceus</i> (resasti igličar)
glukomanan <i>glucomannan</i>	<i>Agaricus blazei</i> (božja gljiva)
galaktoglukomanan <i>galactoglucomannan</i>	<i>Lentinula edodes</i> (Shiitake)



juje razvoj stanica raka dojke u odnosu na kontrolnu skupinu koja nije primala terapiju ovim polisaharidom.

Li i sur. (2004) su ustanovili kako PSP kompleks izoliran iz vrste *Phellinus linteus* (jap. meshimakobu, kin. song gen, kor. sanghwang) zaustavlja razvoj stanica raka debelog crijeva.

Tablica 2 sadrži pregled najvažnijih fungalnih polisaharida sa dokazanim antitumorskim djelovanjem.

U novije vrijeme su istraživane razne metode kojima je cilj kemijska modifikacija fungalnih polisaharida u svrhu povećanja njihove antitumorske aktivnosti. Tako su npr. provedene modifikacije polisaharida izoliranih iz vrsta *Ganoderma lucidum*, *Grifola frondosa* i *Leucopaxillus giganteus* (koturasta debeljača) (Crveni popis gljiva, Hrvatski mikološko gljivarski savez, 2005), a pri tom je primijenjeno više postupaka. Prvi od ovih postupaka je Smithova degradacija koja uključuje tri stupnja (oksidaciju, redukciju i hidrolizu), drugi je formoliza, odnosno razgradnja polisaharida mravljom kiselinom, a treći je karboksimetiliranje (Wasser, 2002).

Neosporivo je da metaboliti gljiva djeluju stimulativno na imunološki sustav čovjeka. Pri tom se smatraju izuzetno vrijednima u prevenciji metastaza te kao dopuna kemoterapiji obzirom da nemju negativnih nuspojava u organizmu oboljelih. Pretpostavlja se da polisaharidi izolirani iz različitih vrsta gljiva sprječavaju nastanak tumora, potiču i poboljšavaju imunološki odgovor domaćina te izravno inhibiraju tumorske stanice.

Međutim, gljive sadrže i neke druge metabolite koji bi mogli pozitivno sinergistički djelovati s polisaharidima te tako utjecati na prevenciju nastanka tumora učincima poput povećanja antioksidacijskog kapaciteta, regulacijom aktivnosti enzima koji sudjeluju u procesima transformacije i detoksifikacije mutagenih tvari, izravnog citotoksičnog djelovanja na stanice tumora ili sudjelovanjem u regulaciji drugih mehanizama u procesu supresije tumora (Borchers i sur., 2004).

Tako se nameće zaključak kako bi ekstrakti gljiva bili puno učinkovitiji u terapiji tumorskih i drugih oboljenja jer bi se učinak polisaharida pojačao sinergističkim djelovanjem drugih tvari poput antioksidanasa te tvari sa baktericidnim, antivirusnim, fungicidnim i sličnim učincima. Međutim, pri tom je jedna od glavnih prepreka činjenica kako i najmanje varijacije u filogenetici, načinu i uvjetima uzgoja te trenutku berbe mogu značajno utjecati na količine pojedinih sastojaka u izoliranom ekstraktu (Borchers i sur., 2004).

Dodatno, prema Wasser (2010) često se čak i u poznatim zbirkama mogu naći gljive koje su pogrešno identificirane. Stoga identifikacija odgovarajućim metodama predstavlja prvi problem koji treba riješiti te istražiti karakteristike čistih kultura gljiva. Potom treba istražiti biološke aktivnosti pojedinih supstanci koje se nalaze u sastavu gljiva, kao i njihovu topljivost, molarnu masu, strukturu te mehanizme djelovanja u organizmu. Preparate treba standardizirati, provesti odgovarajuća klinička istraživanja te educirati javnost o mogućnostima koje pružaju polisaharidi iz gljiva.

6. ZAKLJUČAK

Brojna istraživanja su pokazala kako su gljive dobar izvor prehrambenih vlakana koja pokazuju višestruko korisne učinke poput prevencije razvoja karcinoma, izravnog antitumorskog djelovanja, stimulacije imunološkog odgovora protiv tumora te sinergističkog djelovanja s kemoterapijom.

Točni mehanizmi djelovanja nisu u potpunosti razjašnjeni, međutim poznato je kako polisaharidi gljiva ne izazivaju štetne učinke u tijelu domaćina i zasigurno potiču aktivnost imunološkog sustava u borbi sa zloćudnim tumorima. Kon-

tinuirano se povećava broj gljiva koje služe kao izvor bioaktivnih polisaharida, a time raste i mogućnost njihove primjene u svrhu izlječenja od različitih bolesti. Izolacija spomenutih spojeva je relativno jednostavna, što je još jedna od prednosti koja im ide u prilog.

U današnje vrijeme je sve veća pojava rezistencije na antibiotike, kao i pojava smrtnosti od zloćudnih bolesti uzrokovanih ubrzanom načinom života, nepravilnom prehranom i stresom koje on nosi sa sobom. Stoga je vrlo važno ulagati trud u otkrivanje novih, bioaktivnih spojeva, koji će suvremenom čovjeku pomoći u suzbijanju i borbi protiv istih. Gljive kao izvor visokovrijednih polisaharida zasigurno zauzimaju vodeću poziciju u toj borbi.

7. LITERATURA

- Aida F.M.N.A., Shuhaimi M., Yazid M., Maaruf A.G. (2009) Mushroom as a potential source of prebiotics: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 20, 567-575.
- Barros L., Cruz T., Baptista P., Estevinho L.M., Ferreira I.C.F.R. (2008) Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 2742-2747
- Borchers A.T., Keen C.L., Gershwin M.E. (2004) Mushrooms, Tumors, and Immunity: An Update. *Experimental Biology and Medicine*, 229, 393-406.
- Chow L., Lo W., Loo C. S., Hu W., Sham X. J. (2003) Polysaccharide peptide mediates apoptosis by up-regulating p21 gene and down-regulating cyclin D1 gene. *American Journal of Chinese Medicine*, 31, 1-9.
- Czapski J., Szudyga K. (2000) Frozen mushroom quality as affected by strain, flush, treatment before freezing and time of storage. *Journal of Food Science*, 65(4), 722-725.
- Daba A.S., Ezeronye O.U. (2003) Anti-cancer effect of polysaccharides isolated from higher basidiomycetes mushrooms. *African Journal of Biotechnology*, 2 (12), 672-678.
- Davidson M.H., McDonald A. (1998) Fiber : Forms and Functions. *Nutrition Research*, 18 (4), 617-624.
- Demirbaş A. (2001) Concentrations of 21 metals in 18 species of mushrooms growing in the East Black Sea region. *Food Chemistry*, 75, 453-457.
- Fukushima M., Nakano M., Morii Y., Ohashi T., Fujiwara Y., Sonoyama K. (2001) Hepatic LDL receptor mRNA in rats is increased by dietary mushroom (*Agaricus bisporus*) fiber and sugar beet fiber. *Journal of Nutrition*, 130, 2151-2156.
- Gibson, G.R., Roberfroid, M.B. (1995) Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125, 1401-1412.
- Gullamon E., Garcia-Lafuente A., Lozano M., D'Arri M., Rostagno M.A., Villares A., Martinez J.A. (2010) Edible mushrooms: Role in prevention of cardiovascular diseases. *Fito-terapia*, 81, 715-723.
- Guillon F., Champ M. (2000) Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology. *Food Research International*, 33, 235-244.
- Han X.Q., Chai X.Y., Jia Y.M., Han C.X., Tu P. F. (2010) Structure elucidation and immunological activity of a novel polysaccharide from the fruit bodies of an edible mushroom, *Sarcodon aspratus* (Berk.) S. Ito. *International Journal of Biological Macromolecules*, 47, 420-424.
- Kawagishi H, Kanao T, Inagaki R, Mizuno T, Shimura K, Ito H, Hagiwara T, Hakamura T (1990): Formulation of a potent antitumor (1,6)- β -D-glucan-protein complex from *Agaricus blazei* fruiting bodies and antitumor activity of the resulting products. *Carbohydrate Polymers*, 12, 393-404.



- Li G., Kim D., Kim T., Park B. (2004) Protein-bound polysaccharide from *Phellinus linteus* induces G2/M phase arrest and apoptosis in SW480 human colon cancer cells. *Cancer Letters*, 216, 175-181.
- Lull C., Wichers H.J., Sivelkoul H.J.B. (2005) Antiinflammatory and immunomodulating properties of fungal polysaccharides. *Mediators of Inflammation*, 2, 63-80.
- Manzi P., Aguzzi A., Pizzoferrato P. (2001) Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy. *Food Chemistry*, 71, 321-325.
- Manzi P., Gambelli L., Marconi S., Vivanti V., Pizzaferrato L. (1999) Nutrients in edible mushrooms: an interspecies comparative study. *Food Chemistry*, 65 (4), 477-482.
- Manzi P., Marconi S., Aguzzi A., Pizzoferrato P. (2004) Commercial mushrooms: nutritional quality and effect of cooking. *Food Chemistry*, 84, 201-206.
- Manzi P., Pizzoferrato P. (2000) Beta-glucans in edible mushrooms. *Food Chemistry*, 68, 315-318.
- Neyrinck A.M., Bindels L. B., De Backer F., Pachikian B. D., Cani P. D., Delzenne N. M. (2009) Dietary supplementation with ckitozan derived from mushrooms changes adipocytokine profile in diet-induced obese mice, a phenomenon linked to its lipid-lowering action. *International Immunopharmacology*, 9, 767-773.
- Ng T.B. (1998) A Review of research on the protein-bound polysaccharide (Polysaccharopeptide, PSP) from the mushroom *Coriolus versicolor* (Basidiomycetes: Polyporaceae). *Genetic Pharmacology*, 30 (1), 1-4.
- Okamura K, Kinukawa T, Tsumura Y, Otani T, Itoh T, Kobayashi H, Matsuura O, Kobayashi M, Fukutsu T, Ohshima S (1989) Adjuvant immunochemotherapy: two randomized controlled studies of patients with cervical cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 43, 177-181.
- Schley P.D., Field C.J. (2002) The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics. *British Journal of Nutrition*, 87, 221-230.
- Thebaudin J.Y., Lefebvre A.C., Harrington M., Bourgeois C.M. (1997) Dietary fibres: Nutritional and technological interest. *Trends in Food Science and Technology*, 8, 41-48.
- Trumbo P., Schlicker S., Yates A.A., Poos M. (2002) Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, proteins and amino acids. *Journal of the American Dietetic Association*, 102 (11), 1622-1630.
- Zhang M., Cui S.W., Cheung P.C.K., Wang Q. (2007) Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 4-19.
- Wasser S.P. (2002) Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 60, 258-274.
- Wasser S.P. (2010) Medicinal mushroom science: history, current status, future trends, and unsolved problems. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 12 (1), 1-16.
- Wasser S.P., Weis A. L. (1999) Therapeutic effects of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms: A modern perspective. *Critical Reviews in Immunology*, 19, 65-96.
- Anonymus 1. Dostupno na: <http://www.dietaryfiberfood.com/dietary-fiber.php>. Pristupljeno 18.11.2011.
- Anonymus 2, Dostupno na: <http://www.gljive.com/baza-gljiva>. Pristupljeno: prosinac 2011.
- FAO Corporate Document Repository: Carbohydrate in human nutrition – Physiological Effects of Dietary Fiber (1998). <http://www.fao.org/docrep/W8079E/w8079e01.htm>, pristupljeno 21.11.2011.
- Notification list: Notifications pursuant to article 5 of Regulation (EC) N° 258/97 of the European Parliament and of the Council (2007). Dostupno na: http://ec.europa.eu/food/food/biotechnology/novelfood/notif_list_en.pdf. Pristupljeno: 08.12.2011.
- Crveni popis gljiva, Hrvatski mikološko gljivarski savez (2005). Dostupno na: <http://hmgs.hr/zagorec/Slike/crvenipopisgljiva.pdf>. Pristupljeno: prosinac 2011.