

Trehalóza jako slibná farmaceutická látka

Trehalóza je disacharid složený ze dvou molekul glukózy. Přirozeně se vyskytuje v bakteriích, kvasinkách, hmyzu, rostlinách a zvířatech. Trehalóza spolu s protimrazovými proteiny, které jsou rozpuštěny v tělních tekutinách hmyzu a též obojživelníků a dalších živočichů, je velmi účinnou obranou proti zmrznutí.

Uvádí se, že tito živočišné mohou přežít - 18 °C, některé zdroje uvádějí dokonce - 28 °C. Trehalóza je stabilní, a tak není snadno hydrolyzována v kyselém prostředí žaludku a nepodléhá štěpení glykosidázou.

Hojně se využívá ve farmaceutickém, potravinářském a kosmetickém průmyslu. Z hlediska chuti je sladkost trehalózy v porovnání se sacharózou nižší, ale vytrvalejší, a u spotřebitelů představuje preferovanější volbu. Běžně se využívá jako potravinové aditivum a excipient v léčivech a doplňcích stravy. V potravinářství se využívá v pekárenství, ve zmrzlinách, mléčných produktech, žvýkačkách, rybích produktech, majonéze (potlačuje degradaci tuků) a mnoha dalších. Její slibný potenciál spočívá i u neurodegenerativních onemocnění (ND) prostřednictvím indukce autofagie.

Ve srovnání s glukózou má nižší a pomalejší nárůst hladiny cukru v krvi. Během tepelné úpravy snižuje zápach potravin, prodlužuje tepelné zpracování (odolnější vůči Maillardově reakci) a také zabraňuje změnám barvy potravin. Bezpečná dávka trehalózy u lidí je až 50 g.

Po požití je trehalóza v tenkém střevě hydrolyzována enzymem trehalázou (disacharáza) na dvě molekuly D-glukózy, které jsou následně absorbovány a metabolizovány. Část trehalózy však zůstává v nezměněné formě v lumen a je k dispozici pro střevní fermentaci.

Na zdravých dobrovolnících bylo zjištěno, že denní konzumace čajové lžičky trehalózy udržuje glukózovou homeostázu. Analýza účastníků ukázala, že koncentrace glukózy v plazmě 2 h po 75 g glukózové zátěži byla



PharmDr. Milan Krajčůek,
K2Pharm s.r.o., Opava



RNDr. Anežka Adamcová, Ph.D.

Shrnutí antivirových účinků trehalózy.

Virus	Hlavní zjištění/pozorování	Účinná dávka
Virus lidské imunodeficiency (HIV)	Trehalóza po léčbě snížila HIV-1 v PBMC od zdravého dárce. Léčba trehalózou ex vivo snížila HIV-1 u PBMC pacientů s HIV	100 mM
Herpes cytomegalovirus (HCMV)	Trehalóza změnila intra-MVB virionovou morfologii Trehalóza nezměnila syntézu virové DNA Trehalóza zvýšila lysozomy Trehalóza narušila Rab11, změnila přenos viru	50-100 mM
Herpes cytomegalovirus (HCMV)	Trehalóza zvyšuje autofagozom v buňkách infikovaných HCMV Trehalóza inhibuje expresi genu HCMV a produkci viru v HFF, HAEC a v neuronální kultuře	50-100 mM
Herpes cytomegalovirus (HCMV)	Před a po ošetření trehalózou redukováné anti-HCMV infikované buňky	50-100 mM
Lidský rhinovirus (HRV)	Trehalóza zvyšuje LC3-II v HRV infikovaných lidských primárních epiteliálních buňkách dýchacích cest Trehalóza snižuje IFN1-1 mRNA a podporuje replikaci HRV	100 mM
West Nile virus (WNV)	Virový titr se in vitro při nízké dávce trehalózy nezměnil	10 mM
Virus varicella-zoster (VZV)	Před a po ošetření trehalózou redukovala anti-VZV v infikovaných buňkách	100 mM

významně nižší ve skupině s trehalózou než ve skupině se sacharózou.

VYUŽITÍ TREHALÓZY V LÉČBĚ INFEKČÍ I NEURODEGENERATIVNÍCH NEMOCÍ

Trehalóza poskytuje uplatnění při léčbě klostridiových infekcí. *Clostridium difficile* (CDI) je G⁺ bakterie a je častým původcem nozokomiálních nákaz. Je přítomná ve střevech a patří mezi nejčastější patogeny spojované s průjmem vyvolaným antibiotiky (antibiotic-associated diarrhea, AAD). Nežádoucím účinkem antibiotické léčby je potlačení ochranné střevní mikroflóry, čímž prodlužuje onemocnění a/nebo způsobuje relaps. V in vivo studiích bylo také prokázáno, že CDI tvoří biofilm způsobující zvýšenou rezistenci vůči antibiotikům.

Z dostupných publikací je patrné, že metabolismus trehalózy může ovlivnit virulenci u některých bakteriálních druhů, od umožnění růstu k modulaci imunitní odpovědi na infekci. Jak bylo uvedeno dříve, část trehalózy se neabsorbuje do střeva a je k dispozici střevním bakteriím. Bylo zjištěno, že některé kmeny CDI mají schopnost využít trehalózu pro svůj růst. Tyto virulentní kmeny (ribotyp RT027, RT078, RT017) produkují toxiny a jsou zároveň zodpovědné za vypuknutí četných infekcí.

Kmeny RT027 a RT017 mají bodové mutace v trehalózovém represoru mající za následek zvýšenou expresi trehalózy-6-fosfát hydrolázu (treA). Tento virulentní faktor umožňuje využívat trehalózu jako zdroj uhlíku pro růst. V případě kmenů RT027 se uvádí více než 500násobně zvýšená citlivost na trehalózu. Kmen RT078 obsahuje shluk genů, které umožňují jejich růst již při nízkých koncentracích trehalózy. Stejná studie předkládá dva experimenty



na myších s humanizovanou mikrobiotou obohacenou o CDI a následně orálně podávanou trehalózou (5 mM, 300 nM, ad libitum). Došlo ke zvýšení hladin toxinů a výsledek poukazuje na vznik onemocnění vlivem trehalózy.

Autoři těchto publikací se domnívají, že vznik virulentních kmenů souvisí se zavedením trehalózy jako potravinářského aditiva (počátek 21. století). Současně upozorňují na zvýšený příjem potravin přirozeně obsahující trehalózu (houby, med, kvasnice, korýši). Nutno podotknout, že tato hypotéza přetrvává i přes výrazný pokles incidence CDI infekcí v letech 2010 – 2014.

Nedávná studie však prokázala, že orální podávání trehalózy (3% w/v, ad libitum) a laktotrehalózy (3% w/v) růst kolonií CD 027 nepodporoval. Naopak došlo ke snížení markerů zánětu a toxinů. Není jasné, proč se výsledky této studie liší od dříve uvedených publikací. Vysvětlení může spočívat v rozdílném množství podávaných dávek, které mohou ovlivnit výsledky. K pochopení možné asociace trehalózy s onemocněním CDI jsou zapotřebí další studie.

Navíc, existuje stále více důkazů o terapeutickém potenciálu trehalózy u neu-

rodegenerativních nemocí. Perspektivní přístup k léčbě ND spočívá v indukci autofagie a jako induktor lze využít právě trehalózu. Může tedy snížit akumulaci neurotoxických aberantních/chybně složených proteinů, které se typicky vyskytují u Alzheimerovy, Parkinsonovy a Huntingtonovy choroby. Například Alzheimerova choroba je charakterizována přítomností extracelulárních senilních plaků tvořených peptidy amyloid β ($A\beta$) a intracelulárních neurofibrilárních spleť složených z abnormálně fosforylovaného proteinu tau. S tím je spojena i související ztráta synapsí a neuronů. Na mTor nezávislé induktory autofagie (trehalóza, methylenová modř či lithium) zvyšují clearance proteinů prostřednictvím zvýšené tvorby autofagolysosomů (organely s membránami schopné fúzovat s lysosomem). K autofagozomu se dostanou lysosomální enzymy a dochází k degradaci obsahu.

Nevstřebaná trehalóza má také velmi pozitivní účinky na lidskou mikrobiotu. Kromě toho značně zvyšuje produkci molekulárního vodíku ve střevech a ten volně proniká do jednotlivých orgánů, chová se jako signální molekula a ovlivňuje transkripční faktory. Důsledkem jsou protizánětlivé účinky, zlepšení stavů při ischemii a následné reperfuzi, stoupá antioxidační kapacita krve. Klinické výzkumy jedou naplno a věříme, že se brzy dočkáme přijetí u lékařské veřejnosti, zatím třeba jen snížením závažnosti metabolických onemocnění. Trehalóza je dostupná i vysoce čistá a bez endotoxinů k parenterální aplikaci a hlavně jako stabilizátor při lyofilizaci léčiv. Používá se k výrobě monoklonálních a fragmentovaných protilátek, fúzních proteinů, kmenových buněk, peptidů a vakcín. Největším překvapením ovšem je, že tak jednoduchá a levná látka může mít velmi zajímavé antivirové vlastnosti. V tabulce uvádíme přehled prací z minulosti.

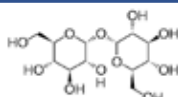
Na některých pracovištích byla trehalóza také testovaná na SARS-COV-2. Zdá se, že je velmi dobře účinná, i když se asi nehodí pro stavy respirační tísně (ARDS) a nedosahuje účinnosti vakcín. Ale jako bezpečná doplňková léčba je nesmírně vítaná. Doporučená denní dávka se pohybuje od 3,3 do 10 g. Jeden z autorů článku si trehalózou sladil kávu (5 g denně) po dobu jednoho roku a zatím nebyly shledány žádné vedlejší nebo nežádoucí účinky. Domníváme se, že ještě o trehalóze v brzké budoucnosti hodně uslyšíme.

Literatura u autora

Neuroprotektce s několika cíli:

- ✓ Stimulace autofagie
- ✓ Zvýšení biogeneze lysosomů
- ✓ Antioxidační účinky
- ✓ Protizánětlivé účinky
- ✓ Remodelace mikrobioty
- ✓ Stimulace aktivity molekulárních chaperonů a odstranění aberantních proteinů

TREHALÓZA



Terapeutické úspěchy na zvířecích modelech a toxicita (LD 50 myš p.o. > 5.000 mg/kg)

- ✓ Alzheimerova choroba
- ✓ Parkinsonova choroba
- ✓ Huntingtonova choroba
- ✓ OPMD
- ✓ ALS

Probíhají klinické testy na lidech (p.o. a i.v.)

Alzheimerova choroba, Spinální muskulární atrofie, ALS, FTDP-17, Machado - Josephova choroba