

УДК 612.017:582.284:579.2

Довгий Р.С., Позур В.В., Святецька В.М., Сухомлин М.М., Лівінська О.П., Макаренко О.М.

ІМУНОБІОЛОГІЧНА ДІЯ ЕКСТРАКТІВ ТА ЗАСОБІВ, ОТРИМАНИХ ІЗ ВИЩИХ ГРИБІВ *GANODERMA LUCIDUM*, *CORDYCEPS SINENSIS* ТА *LEUCOAGARICUS MACRORHIZUS*

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології»

В статті описується вплив екстрактів вищих грибів *Ganoderma lucidum*, *Leucoagaricus macrorhizus* та засобу «Хеюань» на показники імунної системи, такі як метаболічна активність макрофагів та мононуклеарних лейкоцитів селезінки мишей, відносна маса та клітинність лімфоїдних органів. Продемонстровано підвищення вищевказаних показників у порівнянні з контролем. Найбільший вплив здійснював засіб «Хеюань». Показано відсутність протимікробної дії засобу «Хеюань» проти ряду бактерій.

Ключові слова: *Ganoderma lucidum*, *Leucoagaricus macrorhizus*, «Хеюань», імунна система, протимікробна дія.

Назва теми НДР: Механізми реалізації адаптаційно-компенсаторних реакцій організму за умов розвитку різних патологій. Шифр: 11БФ036-01.

Представники аскоміцетових та базидіоміцетових грибів здавна відомі своїми лікувальними властивостями та авторитетно себе зарекомендували у східній медицині. Зокрема представники родів *Ganoderma* (Ling Zhi) та *Cordyceps* є відомими медицині вже більш як 2000 років на території Китаю, Кореї та Японії. Відомо, що тканини даних грибів містять більш як 400 різних біоактивних компонентів, що включають в себе тритерпеноїди, полісахариди, стероли, стероїди, жирні кислоти, пептидні елементи, що володіють великим переліком фармакологічної дії, включаючи імуномодуляцію, антисклеротичну, проти-запальну, знеболюючу, антиканцерогенну, антиоксидантну та протимікробну [5,6,8]. На сьогодні препарати на основі даних грибів є рекомендованими в якості альтернативних та допоміжних засобів для лікування лейкемій, гепатитів, діабету, тощо [4].

Матеріали і методи

Представлені у роботі дані одержані на експериментальному матеріалі. Для експериментів використовували водні екстракти міцелію та культуральну рідину штаму ЧЗ-1 *Ganoderma lucidum* та штаму ТТ-1 *Leucoagaricus macrorhizus* з колекції чистих культур базидіоміцетів кафедри ботаніки ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Для дослідів використовували 1% водний екстракт міцелію та 0,5%, 1% і концентрований розчини культуральної рідини. Також в експериментах використовували готовий засіб «Хеюань» (ТОВ Мерро Інтернешнл, Китай), до складу якого входять: полісахарид міцелія та кислота *Cordyceps sinensis*, полісахарид гриба Рейши (*G. lucidum*), флавіон хризантеми.

Визначення кисень-залежного метаболізму фагоцитуючих клітин. З метою отримання перитонеальних макрофагів мишей, тваринам у черевну порожнину вводили по 5 мл середовища Хенкса та проводили масаж передньої стінки черевної порожнини. Потім відбирали суспензію клітин, що утворилася, та відмивали клітини (1500 об/хв, 10 хв). Осад ресуспендували у 1 мл

середовища Хенкса та доводили кінцеву концентрацію клітин до 1×10^6 клітин/мл.

Функціональну активність визначали по відновленню нітросинього тетразолію (НСТ). НСТ-тест проводили згідно методики Передерій В.Г. та ін. В дослідях використовували препарат «Хеюань» та культуральну рідину гриба *L. macrorhizus* у трьох концентраціях: 50 мкг/мл, 100 мкг/мл та 200 мкг/мл. В дослідні лунки вносили по 20 мкл розчину. Оптичну густину диформазану визначали на мікроплейтфотометрі типу "Reader" (Лаботек, Латвія) при довжині хвилі 630 нм.

Визначення цитотоксичної активності мононуклеарних спленоцитів у МТТ-тесті. В якості клітин-ефекторів використовували лімфоїдні клітини селезінки мишей, яким вводили засіб «Хеюань» та екстракт гриба *Leucoagaricus macrorhizus*. Мононуклеари селезінки виділяли методом центрифугування (1500 об/хв. протягом 30 хв) в градієнті густини фікол-верографіну (Mercks, Німеччина) клітинної суспензії, отриманої в результаті гомогенізації органа в гомогенізаторі Поттера). Їх життєздатність після виділення складала не менше 95%, що було показано суправітальним фарбуванням трипановим синім.

В якості клітин-мішеней використовували клітини алогенної пухлини раку Ерліха. Клітини відмивали повним середовищем RPMI-1640 та доводили цим середовищем до концентрації 2×10^5 кл/мл. Клітини-мішені змішували з клітинами-ефекторами у співвідношенні 1:50 в лунках 96-лункових плоскодонних пластикових планшетах (Медполімер, Росія) в загальному об'ємі 200 мкл. Контрольні лунки включали контроль середовища, контроль клітин-мішеней та контроль ефекторів. Величину оптичного поглинання розчину вимірювали за допомогою мікроплейтфотометра типу "Reader" (МІП "Лаботек", Латвія) при довжині хвилі 545 нм. Кожну пробу ставили в 3-ох паралелях. Специфічну загибель клітин-мішеней розраховували за формулою:

$$\text{Ц} = \left(1 - \frac{E_d - E_e}{E_m - E_c} \right) \times 100\%, \text{ де Ц - відсоток вби-}$$

тих клітин-мішеней, Ед – оптична густина в дослідних лунках, Ее – оптична густина в контрольних лунках (клітини-ефектори без клітин-мішеней), Ем – оптична густина в контрольних лунках (клітини-мішені без клітин-ефекторів), Ес – оптична густина контролю середовища.

Оцінка реакції лімфоїдних органів. Дослідження проведені на нелінійних мишах та мишах лінії Balb/c. Миші були віком від 2-х до 3-х місяців, середньої ваги 18-20 г розведення віварію ННЦ «Інституту біології» КНУ імені Тараса Шевченка. Усі дослідження на тваринах здійснювали згідно із нормами, встановленими законом України №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» і норм, прийнятих в Європейській конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних і наукових цілей від 20.09.1985 [2].

Реакцію органів імунної системи мишей: регіонарних (по відношенню до місця введення досліджуваних речовин) пахових лімфовузлів, селезінок та тимусів оцінювали за відносною масою органу (ваговим індексом), що розраховували за формулою: маса органу/загальна маса тварини, а також за відносною клітинністю органу (питомим вмістом мононуклеарних лейкоцитів), який визначали за формулою: абсолютна клітинність/маса органу [7].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики з розрахунком середнього значення (M), середнього квадратичного відхилення (σ) та середньої квадратичної похибки (m). Для визначення вірогідності відмінності показників між дослідом та контролем використовували t-критерій Стьюдента [1].

Визначення протимікробної активності засобу «Хеюань». Протимікробну активність препаратів вивчали по відношенню до восьми штамів патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* var. *Abony*, *Candida albicans*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, а також по відношенню до двох штамів лактобацил, як представників резидентної мікробіоти кишківника людини – *Lactobacillus acidophilus* та *Lactobacillus casei*.

Штами мікроорганізмів були отримані з музею кафедри мікробіології та загальної імунології ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка. У роботі використовували агаризоване середовище MRS для культур лактобацил, та середовище МПА для культур умовно-патогенних штамів.

Визначення мінімальних інгібуючих концентрацій (МІК) дозволяє виявити найменшу дозу речовини, яка повністю пригнічує ріст бактерій. Дослідження проводили двома способами – на

рідкому та на агаризованих середовищах. Для цього готували середовища із різними концентраціями обох препаратів – 5 мг/мл, 250 мкг/мл, 12,5 мкг/мл (у перерахунку на дозу діючих речовин – екстракти грибів *Cordyceps* і *Ganoderma* відповідно по 2,5 мг/мл, 125 мкг/мл і 6,25 мкг/мл). На агаризоване середовище здійснювали посів методом штриха, на рідке середовище вносили інокулят у об'ємі 1% від загального об'єму. Інкубацію проводили протягом 24 години при температурі 37°C. Після цього визначали кількість біомаси бактерій за оптичною густиною, вимірюючи проби на фотоелектроколометрі (ФЕК) при $\lambda=540$ нм проти незасіяного середовища.

Результати та обговорення

Досліджувані компоненти грибів впливали на кисень-залежний метаболізм досліджуваних субпопуляцій фагоцитів. Засіб «Хеюань» виявився більш ефективним у стимуляції кисень-залежного метаболізму.

Додавання культуральної рідини гриба *L. macrorhizus* у всіх концентраціях призводило до підвищення киснезалежного метаболізму перитонеальних макрофагів мишей, але найактивнішою виявилася концентрація 100 мкг/мл, яка підвищувала кисень-залежний метаболізм у 2,7 разів у порівнянні з контролем (рис.1).

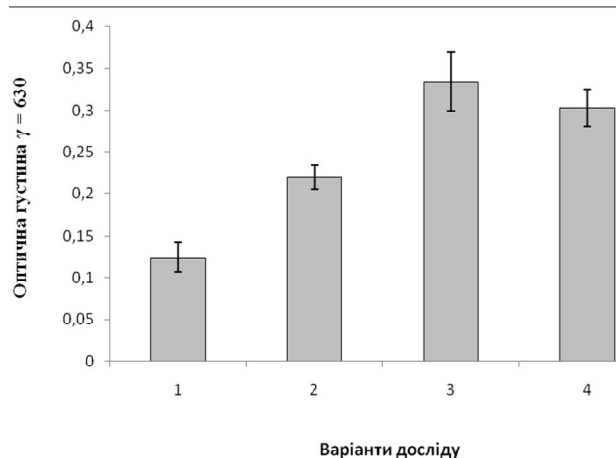


Рис.1. Вплив культуральної рідини гриба *Leucoagaricus macrorhizus* на киснезалежний метаболізм перитонеальних макрофагів мишей. 1 – контроль; 2 – додавання культуральної рідини гриба *Leucoagaricus macrorhizus* у концентрації 50 мкг/мл; 3 – додавання культуральної рідини гриба *Leucoagaricus macrorhizus* у концентрації 100 мкг/мл; 4 – додавання культуральної рідини гриба *Leucoagaricus macrorhizus* у концентрації 200 мкг/мл.

При застосуванні екстракту міцелію гриба *L. macrorhizus* не спостерігалось достовірних змін кисень-залежного метаболізму перитонеальних макрофагів мишей. Це може свідчити про те, що імуномодуючу дію здійснюють компоненти, які екзогенно синтезуються грибом.

Усі концентрації засобу «Хеюань» призводили до стимуляції киснезалежного метаболізму

перитонеальних макрофагів мишей. Найбільший вплив здійснював засіб у концентрації 100 мкг/мл, яка викликала підвищення киснезалежного метаболізму у 19 разів у порівнянні з контролем (рис.2).

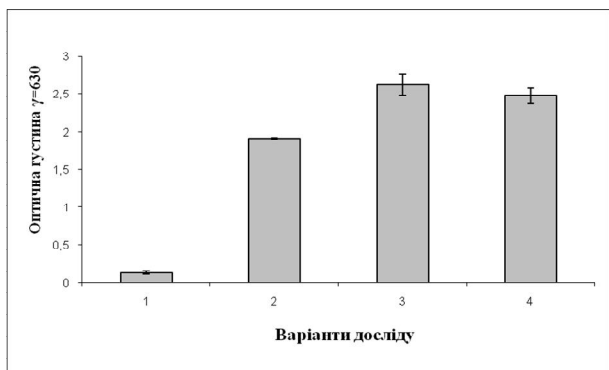


Рис.2. Вплив засобу «Хеюань» на киснезалежний метаболізм перитонеальних макрофагів мишей. 1 – контроль; 2 – додавання препарату «Хеюань» у концентрації 50 мкг/мл; 3 – додавання препарату «Хеюань» у концентрації 100 мкг/мл; 4 – додавання препарату «Хеюань» у концентрації 200 мкг/мл.

Застосування екстракту міцелію гриба *L. macrorhizus* та засобу «Хеюань» призводило до підвищення цитотоксичності мононуклеарів селезінки мишей. Введення інтактним тваринам гриба *L. macrorhizus* призводило до підвищення цитотоксичної активності мононуклеарів мишей на 9,5% у порівнянні з контролем. Засіб «Хеюань» підвищував цитотоксичність мононуклеарів селезінки мишей на 11% (рис.3).

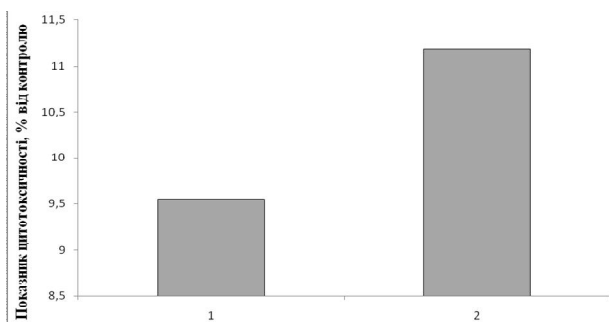


Рис.3. Вплив введення препарату «Хеюань» і екстракту міцелію гриба *L. macrorhizus* in vivo на цитотоксичну активність мононуклеарних спленоцитів мишей; 1 – тварини, яким вводили екстракт міцелію гриба *L. macrorhizus*; 2 – тварини, яким вводили препарат «Хеюань».

Екстракти грибів *L. macrorhizus* та *G. lucidum* впливали на показники відносної маси та клітинності лімфатичних вузлів, селезінки та тимусу нелінійних мишей. Цікавим виявився той факт, що *L. macrorhizus* мав більший вплив на масу та клітинність лімфовузлів порівняно з *G. lucidum*. Найбільш впливовими виявились введення 1% розчину (підвищення відносної клітинності) та концентрату культуральної рідини гриба (підвищення відносної клітинності майже вдвічі у порівнянні з контролем). Більш виразними на вве-

дення даних концентрацій були реакції тимусу та лімфовузлів. При застосуванні 1% розчину культуральної рідини даного гриба спостерігалось підвищення відносної маси та клітинності тимусів вдвічі у порівнянні з контролем (табл.1).

Оскільки збільшення відносної маси і клітинності цих органів може бути свідченням активації клітинної (Т-клітинної) ланки імунітету, яка є ключовою в розвитку протипухлинних реакцій, даний вид може бути продуцентом біологічно активних речовин з імуностимуляторною дією.

Відносна вага селезінки мишей достовірно не змінювалася у порівнянні з інтактним контролем при введенні екстракту міцелію та усіх концентрацій культуральної рідини *L. macrorhizus*. Найбільший вплив на відносну клітинність (зменшення вдвічі у порівнянні з контролем) мало введення екстракту міцелію цього гриба.

Вага лімфовузлів в групах тварин, яким вводили культуральну рідину та водний екстракт *G. lucidum* достовірно не відрізнялась в порівнянні з інтактним контролем. Найбільший ефект на відносну клітинність здійснювало введення водного екстракту міцелію гриба, при якому спостерігалось підвищення відносної клітинності вдвічі у порівнянні з інтактним контролем.

Як відносна вага, так і клітинність тимусу при імунізації тварин 0,5% культуральною рідиною гриба *G. lucidum* були вдвічі більшими в порівнянні з інтактним контролем.

Введення *G. lucidum* характеризувалося більш вираженим впливом на селезінки мишей, який виражався у зниженні їхньої відносної маси та клітинності у порівнянні з інтактним контролем. Найбільший вплив на відносну масу здійснювали 0,5% та 1% розчини культуральної рідини, на клітинність – 1% та концентрат культуральної рідини (табл.1).

Відносна маса лімфовузлів мишей, яким вводили екстракт міцелію *L. macrorhizus*, достовірно не відрізнялася від інтактного контролю. Введення препарату «Хеюань» також не призводило до достовірних змін відносної маси лімфовузлів. Відносна клітинність лімфовузлів при введенні екстракту міцелію *L. macrorhizus* зменшувалася у 1,8 разів у порівнянні з контролем. Введення препарату «Хеюань» призводило до зменшення відносної клітинності у 6,4 разів у порівнянні з контролем.

Введення екстракту міцелію *L. macrorhizus* призводило до підвищення відносної маси селезінок у 1,8 разів у порівнянні з інтактним контролем, в той час як «Хеюань» зумовлював незначне підвищення відносної маси селезінок. Відносна клітинність селезінки у тварин, яким вводили як «Хеюань», так і *L. macrorhizus*, достовірно не змінювалася у порівнянні з контролем.

Таблиця 1.
Реакція лімфоїдних органів мишей на введення культуральної рідини та екстрактів міцелію грибів *Ganoderma lucidum* та *Leucoagaricus macrorhizus*

Групи тварин	Лімфовузли		Селезінки		Тимуси	
	Ваговий індекс $\times 10^4$	Відносна клітинність $\times 10^7$	Ваговий індекс $\times 10^3$	Відносна клітинність $\times 10^7$	Ваговий індекс $\times 10^3$	Відносна клітинність $\times 10^7$
Контрольні тварини	3±1	3,4±1	12±3	18,7±0,07	1,65±0,07	2,8±0,3
<i>Leucoagaricus macrorhizus</i>						
Вводили 0,5% розчин культуральної рідини	5±1*	4,6±2,1	11±0,1	18,4±5,4	3,18±1*	3±0,8
Вводили 1% розчин культуральної рідини	5±1*	7,1±0,5*	9±3	13,6±2,3*	3,35±1*	5,7±0,1*
Вводили концентрат культуральної рідини	5±1*	6,2±0,5*	12±0,5	15,4±0,5*	3±0,1*	4,1±0,3*
Вводили 1% водний екстракт міцелію	3±0,7	7,5±0,2*	9±4	8,7±2,6*	3±0,7*	2,9±0,6
<i>Ganoderma lucidum</i>						
Вводили 0,5% розчин культуральної рідини	4±1	4,3±1,7	5±0,2*	5,8±1,5*	3,26±0,4*	5,1±0,3*
Вводили концентрат культуральної рідини	4±1	5,8±0,5*	5±0,8*	3,8±0,6*	2,16±0,2*	3,1±0,9
Вводили 1% водний екстракт міцелію	4±1	7±1,4*	11±1	4±1*	2,55±0,4*	3,7±0,3*

Примітка: * - $P < 0,05$ – достовірно у порівнянні з інтактними тваринами.

Відносна маса тимусів тварин, яким вводили препарат «Хеюань», зменшувалася на 27% у порівнянні з контролем. Введення екстракту міцелію *L. macrorhizus* не призводило до достовірних змін відносної маси тимусів у порівнянні з ін-

тактним контролем. Відносна клітинність при введенні як препарату «Хеюань» так і екстракту міцелію гриба *L. macrorhizus* достовірно не змінювалася (табл.2).

Таблиця 2.
Реакція лімфоїдних органів мишей ліній Balb/c на введення препарату «Хеюань» та екстракту міцелію *Leucoagaricus macrorhizus*

Групи тварин	Лімфовузли		Селезінки		Тимуси	
	Ваговий індекс $\times 10^2$	Відносна клітинність $\times 10^5$	Ваговий індекс $\times 10^2$	Відносна клітинність $\times 10^5$	Ваговий індекс $\times 10^2$	Відносна клітинність $\times 10^5$
Контрольні тварини	0,05±0,01	10,9±1,1	0,4±0,02	2,7±1,7	0,1±0,01	36,4±3,9
Тварини, яким вводили екстракт міцелію <i>L. macrorhizus</i>	0,06±0,01	5,9±1,8*	0,7±0,1*	2,8±0,4	0,2±0,04	30,3±5
Тварини, яким вводили засіб «Хеюань»	0,05±0,01	1,7±0,5*	0,4±0,02*	3±1,7	0,1±0,01*	31,7±2,2

Примітка: * - $P < 0,05$ – достовірно у порівнянні з інтактними тваринами

Дослідження протимікробної активності засобу «Хеюань» показали відсутність антимікробної активності по відношенню до усіх тест-культур мікроорганізмів (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* var. *Abony*, *Candida albicans*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*) (Табл.3). Таким чином, компоненти вищих грибів не гальмують ріст патогенних (*Salmonella enterica*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*), умовно-

патогенних (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*) бактерій, умовно-патогенних грибків (*Candida albicans*) та представників нормофлори шлунково-кишкового-тракту (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*). Попередні наші роботи свідчать про виражений вплив на імунну систему організму, таким чином можна припустити можливість імуноопосередкованої протимікробної дії вищих грибів на умовно-патогенну і патогенну мікрофлору.

Таблиця 3.
Визначення мінімальних інгібуючих концентрацій (МІК) для засобу «Хеюань».

Культура	<i>E. coli</i>	<i>St. aureus</i>	<i>S. enterica</i>	<i>C. albicans</i>	<i>Sh. flexneri</i>	<i>Sh. sonnei</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. casei</i>
МІК, мг/мл	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1

Дослідження інших авторів показують також відсутність протимікробної дії по відношенню до резидентної мікробіоти, але водночас – виражену антибактеріальну дію по відношенню до умовно-патогенних мікроорганізмів, зокрема *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* та *Candida albicans* екстрактів грибів роду *Ganoderma* у дозах 1.0-2.0 мг/мл [9], *Clostridium paratrificum*, *Clostridium perfringens* при концентрації 10 мкг/диск [3] та до інших представників

патогенної флори при концентрації діючої речовини 0.75 мг/мл [10]. Відмінність отриманих нами даних від літературних з приводу відсутності антибактеріального ефекту по відношенню до умовно патогенних мікроорганізмів може бути обумовлена вибором недостатньо широкого спектру штамів, використовуваних у роботі. З іншого боку, відсутність впливу засобу «Хеюань» на мікробіоту в цілому дає можливість їх використання без ризику порушення мікробного гомеостазу та зосередити ефект лише на імунній системі паціє-

ента.

Висновки

Таким чином, екстракти та засоби із вищих грибів володіють вираженою імуномодулюючою дією. Серед порівнюваних екстрактів засіб «Хеюань» найбільше підвищував показники кисень-залежного метаболізму перитонеальних макрофагів. Екстракти *L. macrorhizus* та *G. lucidum*, в свою чергу, володіли вищою активністю по відношенню до відносної маси та клітинності лімфоїдних органів. Особливістю дії екстракту *G. lucidum* було зниження показників відносної маси та клітинності селезінок, що може бути свідченням як пригнічення гуморальної імунної відповіді, так і токсичної дії на селезінку. Наявність імуномодулюючої та відсутність протимікробної дії свідчать про специфічність впливу засобу «Хеюань» на лімфоїдні клітини.

Відсутність антибактеріальної дії даного препарату на мікроорганізми свідчить про можливість його застосування без ризику впливу на мікробний ценоз кишківника.

Література

1. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных / О.Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.
2. Резников О. Проблеми етики при проведенні експериментальних медичних і біологічних досліджень на тваринах / О. Резников // Вісн. НАН України. – 2001. – №1. – С. 5-7.
3. Ahn Y.J. Cordycepin: selective growth inhibitor derived from liquid culture of *Cordyceps militaris* against *Clostridium spp* / Y.J. Ahn, S.J. Park, S.G. Lee [et al.] // J. Agric. Food Chem. – 2000. – V. 48. – P. 2744-2748.
4. Chang S.T. The role of culinary-medicinal mushrooms on human welfare with a pyramid model for human health / S.T. Chang, S.P. Wasser // Int. J. Med. Mushrooms. – 2012. – V. 14. – P. 95-134.
5. Hsu H.-Y. Extract of Reishi polysaccharides induces cytokine expression via TLR4-modulated protein kinase signaling pathways / H.-Y. Hsu, K.-F. Hua, C.-C. Lin [et al.] // J. Immunol. – 2004. – V. 173. – P. 5989-5999.
6. Karaman M. Medicinal and edible lignicolous fungi as natural sources of antioxidative and antibacterial agents / M. Karaman, E. Jovin, R. Malbasa [et al.] // Phytother. Res. – 2010. – 2010. – V. 24. – P. 1473-1481.
7. Kozłowska E. Sensitivity of mouse lymphoid and nonlymphoid organs to Silesian air pollutants / E. Kozłowska, J. Kopec-Szlezak, N. Dreła // Ecotoxicol. Environ. Saf. – 1997. – №37. – P.10-16.
8. Sanodiya B.S. *Ganoderma lucidum*: a potent pharmacological macrofungus / B.S. Sanodiya, G.S. Thakur, R.K. Baghel [et al.] // Curr. Pharm. Biotechnol. – 2009. – V. 10. – P. 717-742.
9. Smania Junior A. Derivatization does not influence antimicrobial and antifungal activities of applanoxidic acids and sterols from *Ganoderma spp* / A. Smania Junior, E.F. Smania, F. Della Monache [et al.] // Z. Naturforsch. C. – 2006. – V. 61. – P.31-34.
10. Yoon S.Y. Antimicrobial activity of *Ganoderma lucidum* extract alone and in combination with some antibiotics / S.Y. Yoon, S.K. Eo, Y.S. Kim [et al.] // Arch. Pharm Res. – 1994. – V. 17. – P. 438-442.

Реферат

ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭКСТРАКТОВ И СРЕДСТВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ВЫСШИХ ГРИБОВ GANODERMA LUCIDUM, CORDYCEPS SINENSIS И LEUCOAGARICUS MACRORHIZUS

Довгий Р.С., Позур В.В., Святецкая В.Н., Сухомлин М.Н., Ливинская Е.П., Макаренко А.Н.

Ключевые слова: *Ganoderma lucidum*, *Leucoagaricus macrorhizus*, «Хеюань», иммунная система, противомикробное действие.

В статье описывается влияние экстрактов высших грибов *Ganoderma lucidum*, *Leucoagaricus macrorhizus* и средства «Хеюань» на показатели иммунной системы, такие как метаболическая активность макрофагов и мононуклеарных лейкоцитов селезенки мышей, относительная масса и клеточность лимфоидных органов. Продемонстрировано повышение вышеуказанных показателей по сравнению с контролем. Наибольшее влияние осуществляло средство «Хеюань». Показано отсутствие противомикробного действия средства «Хеюань» против ряда бактерий.

Summary

IMMUNOBIOLOGIC ACTION OF EXTRACTS AND MEDICINES, OBTAINED FROM MUSHROOMS GANODERMA LUCIDUM, CORDYCEPS SINENSIS AND LEUCOAGARICUS MACRORHIZUS

Dovgij R.S., Pozur V.V., Svyatetska V.N., Suhomlyn M.N., Livinska O.P., Makarenko A.N.

Key words: *Ganoderma lucidum*, *Leucoagaricus macrorhizus*, «Heuwan», immune system, antimicrobial action.

Specimens of ascomycota and basidiomycota are known for their medical properties for a long time. Particularly specimens of genus *Ganoderma* and *Cordyceps* are known in Chinese, Korean and Japanese medicine for more than 2000 years. It's known that tissues of these mushrooms contain more than 400 different bioactive compounds with wide specter of pharmacological activity. This article shows the results of our experiments focused on the immunomodulating and antimicrobial properties of some medicines and extracts obtained from higher fungi. We used extracts of mycelium and culture medium of *Leucoagaricus macrorhizus* and *Ganoderma lucidum* and medicine "Heuwan", containing polysaccharides of mushrooms *Cordyceps sinensis* and *Ganoderma lucidum*. We analysed oxygen-dependent metabolism of peritoneal macrophages, relative weight and cellularity of lymphoid organs, conducted MTT assay and determined minimal inhibitory concentrations of our medicines. Addition of 100 mkg/ml of *L. macrorhizus* culture medium increased oxygen-dependent metabolism in 2,7 times compared to control. Application of medicine "Heuwan" in concentration of 100 mkg/ml increased oxygen-dependent metabolism in 19 times compared to control. Application of *L. macrorhizus* to intact mice resulted in the increase of mononuclear leukocytes cytotoxic activity on 9,5 % compared to control. The medicine "Heuwan" increased cytotoxicity of mononuclear leukocytes of intact mice on 11%. *L. macrorhizus* and *G. lucidum* extracts affected on indexes of relative weight and cellularity of lymph nodes, spleens and thymuses of mice. The effective were application of 1% solution and concentrate of culture medium of *L. macrorhizus*. These concentrations affected more powerfully on thymuses and lymph nodes. Relative weight of mice spleen didn't change reliably compared to control at application of mycelium extract and all concentrations of culture medium of *L. macrorhizus*. Mycelium extract of this mushroom affected the most on relative cellularity of spleens. Relative weight of lymph nodes hadn't re-

liable changes in groups of mice, which got culture medium and water extract of *G. lucidum*. The most effect on relative cellularity caused application of mycelium water extract of this mushroom. This index increased twice compared to control. Both relative weight and cellularity of thymuses increased twice compared to control at application of *G. lucidum* 0,5% solution of culture medium. Application of *G. lucidum* affected more powerfully at mice spleens. Its represented in decrease of their relative weight and cellularity compared to control. The most effect on relative weight caused 0,5% and 1% solutions of culture medium, on cellularity – 1% solution and concentrate of culture medium. Relative weight of lymph nodes of mice didn't change reliably compared to control at application of both *L. macrorhizus* and medicine "Heuwan". Relative cellularity at application of *L. macrorhizus* decreased in 1,8 times compared to control. Application of medicine "Heuwan" decreased relative cellularity in 6,4 times compared to control. Application of *L. macrorhizus* mycelium extract caused the increase of relative weight of spleens in 1,8 times compared to control, while "Heuwan" caused less increase of relative weight of spleens. Relative cellularity of spleens didn't change reliably in both experimental groups. Relative weight of thymuses decreased on 27% at application of medicine "Heuwan". *L. macrorhizus* hadn't effect on this parameter. Relative cellularity of thymuses didn't change in both groups compared to control. Research of antimicrobial activity of medicine "Heuwan" showed absence of it on all cultures of microorganisms. Thus, compounds of higher fungi didn't inhibit growth of pathogenic, conditionally pathogenic and non pathogenic bacteria. Thus, extracts and medicines obtained from higher fungi have immunomodulating properties. Absence of antimicrobial activity allows to use these medicines without the risk of disorder of microbial homeostasis and to concentrate effect only on immune system of the patient.

УДК 616.716.85/.87–001–003.93:616.71–007.234]-092.9

Желнин Е. В.

ПОСТТРАВМАТИЧЕСКАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ АЛЬВЕОЛЯРНОЙ КОСТИ И ЕЕ СВЯЗЬ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ КРОВИ ПРИ ГЛЮКОКОРТИКОИДНОМ ОСТЕОПОРОЗЕ У КРЫС

Харьковский национальный медицинский университет

Цель – сопоставить процессы посттравматической регенерации альвеолярной кости при остеопорозе с метаболическими показателями крови и выявить наиболее чувствительные показатели. Материалы и методы. Эксперименты выполнены на крысах линии WAG, разделенных на 3 группы: 1 группа – интактные; 2 группа – остеопороз; 3 группа – остеопороз+травма нижней челюсти. На исследование брали нижнюю челюсть (у животных 3 группы с участком травмы) для морфологического исследования и кровь, в которой определяли кальций (Ca), фосфор (P), щелочную фосфатазу (ЩФ), ИЛ-16, ФНО-6, ИЛ-8. В 3 группе исследования проводили на 7, 14, 28 и 45 сут после травмы. Результаты. Морфологически обнаружили отставание и нарушение хода остеорепарации челюсти у крыс с остеопорозом с 7 по 45 сут. В крови изменяются все изученные показатели, кроме P. Наибольшие сдвиги обнаружены в концентрации цитокинов. Содержание ИЛ-16 и ИЛ-8 повышено во все сроки, ФНО-6 – на 7-14 сут. Максимум концентрации цитокинов зарегистрирован на 14 сут. Выводы. 1. Отставание процессов посттравматической регенерации альвеолярной кости при остеопорозе сопровождается нарушением метаболизма Ca, ЩФ, ИЛ-16, ФНО-6, ИЛ-8 в крови. 2. Наиболее чувствительные показатели – ИЛ-16 и ИЛ-8. 3. Разнонаправленные изменения Ca и ЩФ в крови можно трактовать лишь с привлечением методов морфологического анализа альвеолярной кости.

Ключевые слова: регенерация альвеолярной кости, морфология, метаболизм, остеопороз.

Связь публикации с плановыми научно-исследовательскими работами – работа выполнена согласно с планом научно-исследовательских работ Харьковского национального медицинского университета «Усовершенствование и разработка новых индивидуализированных методов диагностики и лечения стоматологических заболеваний у детей и взрослых» (№гос.регистрации 0112U002382)

Поиск объективных чувствительных и специфических маркеров метаболизма костной ткани, отражающих ход регенерации кости для прогнозирования осложнений – важная задача современной медицины. Множество факторов может вызвать нарушения течения регенерации, среди них – предшествующие заболевания, связанные с нарушением структурно-функционального состояния костной ткани, в частности остеопороз. Темпы роста заболевания повышаются как в Украине, так и во всем мире. Увеличение количества людей пожилого и

старческого возраста, изменение условий и образа жизни позволяют прогнозировать усугубление социально-экономических последствий остеопороза [1].

Исследования процессов посттравматической регенерации альвеолярной кости с привлечением широкого спектра морфологических, морфометрических, поляризационно-оптических методов [2] позволило объяснить динамику ряда метаболических показателей крови: некоторые из них могут быть использованы как показатели хода заживления [3,4]. Так, классические биохимические