

УДК 57.083.32

ИССЛЕДОВАНИЕ *IN VIVO* ГЕМАТОТРОПНЫХ И ИММУНОТРОПНЫХ СВОЙСТВ СУБСТАНЦИЙ НА ОСНОВЕ МИЦЕЛИЯ ГРИБОВ *GANODERMA LUCIDUM* И *LAETIPORUS SULFUREUS*

Т. Р. РОМАНОВСКАЯ¹⁾, Н. В. ИКОННИКОВА¹⁾, М. В. ЛОБАЙ¹⁾

¹⁾Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова, Белорусский государственный университет, ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск, Беларусь

Исследованы *in vivo* возможные гематотропные и иммунотоксические эффекты субстанций на основе мицелия грибов с лечебными свойствами *Ganoderma lucidum* LM-8 и *Laetiporus sulfureus* LM-11. Показано, что данные субстанции не обладают иммунотоксическим действием при использовании в дозе 50 мг/кг массы животного. Установлено, что применение в использованных дозах комбинированной грибной субстанции на основе мицелия *L. sulfureus* LM-11 и *G. lucidum* LM-8 вызывает снижение численности лейкоцитов в периферической крови при сохранении их физиологического уровня и лейкоцитарной формулы, а также выявлено ингибирующее действие на функциональную активность перитонеальных макрофагов. Основной иммунотропный эффект всех исследованных субстанций сосредоточен на усилении клеточного иммунного ответа, что проявляется достоверным в сравнении с контрольной группой животных увеличением индекса гиперчувствительности замедленного типа.

Ключевые слова: гематотропные свойства; иммунотропный эффект; иммунотоксичность; грибные субстанции; *Ganoderma lucidum*; *Laetiporus sulfureus*; перитонеальные макрофаги; гиперчувствительность замедленного типа; гуморальный иммунный ответ; видовой иммунитет.

STUDYING *IN VIVO* HEMATOTROPIC AND IMMUNOTROPIC PROPERTIES OF SUBSTANCES BASED ON MYCELIUM OF MUSHROOMS *GANODERMA LUCIDUM* AND *LAETIPORUS SULFUREUS*

T. R. ROMANOVSKAYA^a, N. V. IKONNIKOVA^a, M. V. LOBAI^a

^aInternational Sakharov Environmental Institute, Belarusian State University,
23/1 Dauhabrodskaya Street, Minsk 220070, Belarus

Corresponding author: N. V. Ikonnikova (sofnat@mail.ru)

Образец цитирования:

Романовская Т. Р., Иконникова Н. В., Лобай М. В. Исследование *in vivo* гематотропных и иммунотропных свойств субстанций на основе мицелия грибов *Ganoderma lucidum* и *Laetiporus sulfureus* // Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология. 2019. № 1. С. 76–83.

For citation:

Romanovskaya T. R., Ikonnikova N. V., Lobai M. V. Studying *in vivo* hematotropic and immunotropic properties of substances based on mycelium of mushrooms *Ganoderma lucidum* and *Laetiporus sulfureus*. J. Belarus. State Univ. Ecol. 2019. No. 1. P. 76–83 (in Russ.).

Авторы:

Татьяна Ренальдовна Романовская – кандидат медицинских наук, доцент; доцент кафедры иммунологии и экологической эпидемиологии.

Наталья Валерьевна Иконникова – кандидат биологических наук, доцент кафедры иммунологии и экологической эпидемиологии.

Марина Валерьевна Лобай – преподаватель кафедры иммунологии и экологической эпидемиологии.

Authors:

Tatyana R. Romanovskaya, PhD (medicine), docent; associate professor at the department of immunology and environmental epidemiology.

trromanovskaya@gmail.com

Natalia V. Ikonnikova, PhD (biology), associate professor at the department of immunology and environmental epidemiology.

sofnat@mail.ru

Maryna V. Lobai, lecturer at the department of immunology and environmental epidemiology.

marina.lobai@mail.ru

The possible hematotropic and immunotoxic effects of substances based on the fungal mycelium with the healing properties of *Ganoderma lucidum* LM-8 and *Laetiporus sulfureus* LM-11 were studied *in vivo*. It is shown that these substances do not have an immunotoxic effect when used at a dose of 50 mg/kg of animal weight. It has been established that the use of a combined mushroom substation based on the *L. sulfureus* LM-11 and *G. lucidum* LM-8 mycelium in used doses causes a decrease in the number of leukocytes in the peripheral blood while maintaining their physiological level and leukocyte formula. The inhibitory effect of the combined mushroom substation on the functional activity of peritoneal macrophages was shown. The main immunotropic effect of all the investigated substances is focused on the enhancement of the cellular immune response, which is manifested as a significant increase in the hypersensitivity index of the delayed type in comparison with the control group of animals.

Key words: hematotropic properties; immunotropic effect; immunotoxicity; fungal substances; *Ganoderma lucidum*, *Laetiporus sulfureus*; peritoneal microphages; delayed-type hypersensitivity; humoral immune response; species immunity.

Введение

Известным источником для получения иммунокорректоров являются природные субстраты (растения, грибы, культуры бактерий). На их основе ряд лекарственных и диагностических препаратов уже активно работает в исследовательском и терапевтическом направлении. В тоже время субстанции природного происхождения отличаются сложным химическим составом. Вещества разных химических групп образуют в составе эукариотической или прокариотической клетки сложные комбинации, действие которых может кардинально отличаться от химически чистого соединения.

Важной научно-практической задачей в поле исследования и применения иммунокорректирующих средств природного происхождения является обеспечение стабильности наблюдаемого иммуностропного эффекта. Ее реализация находится на стыке химии, которая позволяет фракционировать и выделять разные компоненты из исходного биологического сырья, и иммунологии, позволяющей оптимизировать систему регистрации наличия иммуностропного эффекта и конкретизировать конечную мишень воздействия иммунокорректора. Не менее важно учитывать высокую степень индивидуальности проявления иммуностропного эффекта на клетках, в средах или в организмах. Разрешение этой задачи требует увеличения числа наблюдений и применения сложных экспериментальных моделей, позволяющих нивелировать случайные эффекты.

В качестве сырья для получения лечебных и диагностических препаратов с иммуностропной активностью используют базидиальные грибы. Они отличаются высоким уровнем исследованности химического состава. Многие их компоненты изучены в направлении противоопухолевой, противопаразитарной и противомикробной активности. Многочисленные эмпирические наблюдения демонстрируют возможность реализации подтвержденных эффектов базидиальных грибов через иммунитет. Это означает необходимость систематизированного и направленного исследования иммуностропной активности компонентов как самих базидиальных грибов, так и продуцируемых ими веществ [1].

Высшие базидиальные грибы являются продуцентами целого ряда биологически активных соединений: белков, липидов, полисахаридов, органических кислот, ферментов, витаминов и др. Многие из этих соединений фармакологически активны и, по сравнению с продуктами химического синтеза, менее токсичны и более эффективны при применении в медицинской практике [2–5].

В нашей стране разработан ряд соответствующих методических рекомендаций, регламентирующих изучение влияния на иммунную систему фармакологических средств: алергизирующего и иммунотоксического действия потенциальных лекарственных препаратов [6–8].

Предложенный подход к оценке иммунотоксического действия заключается в исследовании ряда интегральных иммунологических функций, позволяющих в эксперименте на животных, учитывая результаты гематологических и морфологических исследований лимфоидных органов, доказать или исключить возможность развития иммунотоксического действия, вызванного фармакологическим средством или его метаболитами.

Существующие представления о ходе развития защитных реакций иммунной системы свидетельствуют о том, что в эксперименте обнаружить повреждения в иммунной системе под воздействием фармакологических средств с большей вероятностью можно при использовании модели антигенного стимула, то есть на фоне развития специфического иммунного ответа, включающего в себя все этапы иммунного реагирования [7].

Однократное введение фармакологического средства с перерывом в 1 ч от введения антигена позволяет выявить прямое действие на иммунные реакции и на клетки иммунной системы.

Цель исследования – оценить гематотропную и иммуностропную активность субстанций на основе мицелия грибов *Ganoderma lucidum* LM-8 и *Laetiporus sulfureus* LM-11 в условиях *in vivo* в модели клеточного, гуморального иммунного ответа и в отношении факторов видового иммунитета.

Материалы и методы исследования

Субстанции на основе грибов представляют собой сухой измельченный мицелий грибов (порошок), полученный при погруженном культивировании базидиальных грибов *G. lucidum* LM-8 и *L. sulfureus* LM-11 на искусственных питательных средах в оптимизированных лабораторных условиях. Так, субстанция *G. lucidum* LM-8 содержит 100 % мицелий гриба ганодерма, а субстанция *L. sulfureus* LM-11 – 100 % мицелий гриба латипорус. В состав комбинированной субстанции входит порошок грибного мицелия *L. sulfureus* LM-11 и *G. lucidum* LM-8 в соотношении 1:2 соответственно.

Исследование иммунотоксичности проведено на лабораторных животных – нелинейных мышах массой тела 18–22 г. Выбор нелинейных животных объясняется скрининговым этапом исследования: в группе мышей могут оказаться особи с индивидуальными особенностями иммунного ответа, что позволяет регистрацию реакции не отдельного типа, а многообразия. Таким образом, в зависимости от вариаций проявленных реакций исследование может быть переориентировано на оценку ответной реакции линейных животных.

Каждая группа состояла из 9 животных, получавших стандартный рацион питания и содержавшихся в одинаковых условиях. Группы животных определены в соответствии с поставленными задачами:

- опытная группа 1 – животные, получавшие грибную субстанцию на основе мицелия *G. lucidum* LM-8;
- опытная группа 2 – животные, получавшие грибную субстанцию на основе мицелия *L. sulfureus* LM-11;
- опытная группа 3 – животные, получавшие комбинированную грибную субстанцию на основе мицелия *L. sulfureus* LM-11 и *G. lucidum* LM-8;
- группа контроля – интактные животные, которые вместо грибной субстанции получали дистиллированную воду в том же объеме и в те же дни, что и животные опытных групп. Для контроля использовали 2 группы животных, поскольку эксперимент проводили в два этапа, учитывая скрининговый характер исследования. На первом этапе изучали биологическое действие отдельных грибных субстанций, на втором – влияние комбинированной субстанции.

Дозы и режимы введения субстанций как потенциальных фармакологически активных веществ разработаны согласно общепринятым методикам. Субстанции вводили 7 дней (per os) 1 раз в день в дозе 50 мг/кг.

Индукция иммунного ответа производилась суспензией эритроцитов барана. Первая иммунизация эритроцитами барана в концентрации 1×10^7 эритроцитов в 0,1 мл изотонического раствора NaCl совмещена с первым введением субстанции. На 6-й день эксперимента проводилась индукция ГЗТ (введение разрешающей дозы антигена – эритроцитов барана под апоневроз задней лапы). На 8-е сутки животных снимали с эксперимента.

Согласно общепринятым требованиям к исследованию иммуностропного/иммунотоксического действия лекарственных препаратов [1–3], для оценки показателей видового иммунитета определялись следующие показатели периферической крови лабораторных животных:

- общее количество лейкоцитов периферической крови и лейкоцитарная формула;
 - функциональные параметры перитонеальных макрофагов, отражающие поглотительную способность фагоцитов в отношении *Staphylococcus aureus*: фагоцитарный показатель – ФП и фагоцитарное число – ФЧ;
 - показатели, отражающие метаболическую активность фагоцитов: количество НСТ+-клеток и средний цитохимический коэффициент – СЦК;
 - функциональная активность классического пути активации системы комплемента – СН50;
 - функциональная активность альтернативного пути активации системы комплемента – АР50.
- Для оценки показателей антигенспецифического (приобретенного) иммунитета определяли:
- индекс массы селезенки как интегральный параметр антигенспецифического иммунного ответа у мышей;
 - параметры развития гуморального иммунного ответа (число антителообразующих клеток селезенки – АОК) и титр антител к эритроцитам барана (гемагглютининов);
 - параметры развития клеточного иммунного ответа – индекс ГЗТ (выраженность реакции гиперчувствительности замедленного типа).

Исследование гемато- и иммуностропных свойств субстанций на основе грибного мицелия проведено в соответствии с методическими рекомендациями по изучению иммуномодулирующих лекарственных средств. Все использованные методики стандартны [1–3].

Обработка данных была проведена с применением программы Microsoft Excel. Характер распределения данных был проанализирован по критерию Шапиро–Уилка. Было показано, что для большинства полученных данных характерно параметрическое (нормальное) распределение ($p < 0,05$). В связи с этим

данные в таблицах представлены как среднее и соответствующее стандартное отклонение ($M \pm \sigma$). Сравнение данных было проведено по t -критерию Стьюдента в случае нормального распределения. Для анализа использовались табличные значения критерия Стьюдента с уровнем достоверности 95 % ($p < 0,05$). Если вычисленное значение t оказывалось меньше табличного, то различие между средним признавалось статистически не значимым. При вычисленном t большим, чем табличное значение, различие считалось значимым с вероятностью $> 95\%$.

Результаты исследования и их обсуждение

Ранее в исследованиях показана значимость биологически активных соединений глубинного мицелия как отдельных грибов-продуцентов, так и специально составленных композиций из них, взаимодополняющих и усиливающих действие друг друга, для разработки комплексных препаратов широкого спектра действия с функционально-корректирующими свойствами. На основе глубинного мицелия полисахаридсинтезирующего гриба *G. lucidum* и липидсинтезирующего гриба *L. sulphureus* разработаны композиции с лечебными свойствами, характеризующиеся высоким содержанием липидов, фосфолипидов, полисахаридов, каротиноидов и фенольных соединений [9]. Биологическая ценность *L. sulphureus*, в частности высокая антиокислительная активность экстрактов из мицелия гриба, обеспечивается присутствием фенольных, полиеновых соединений, линолевой кислоты, а также каротиноидов в его мицелии [9]. Широчайший спектр биологической активности гриба *G. lucidum* (иммуномодулирующие, противоопухолевые, противовирусные, антиоксидантные, гипогликемические, гиполипидемические, гепато- и генопротекторные свойства) определяют высоко активные соединения мицелия – полисахариды, тритерпены, а также белки, жирные кислоты и нуклеозиды [10]. В большинстве случаев противоопухолевое и иммуномодулирующее действия *G. lucidum* обуславливают полисахариды. Исследования *in vitro* и *in vivo* свидетельствуют, что их воздействие на иммунную систему разнообразно и включает влияние на функции антигенпрезентирующих клеток, системы мононуклеарных фагоцитов, гуморального и клеточного иммунитета [11].

Влияние субстанций на основе мицелия грибов *G. lucidum* LM-8 и *L. sulphureus* LM-11 на общие и неспецифические показатели иммунной системы. Изучение влияния субстанций на основе мицелия грибов *G. lucidum* LM-8 и *L. sulphureus* LM-11 на показатели периферической крови показало, что животные опытных и контрольных групп не отличались по основным показателям, в частности по уровню лейкоцитов и характеру лейкоцитарной формулы. Полученные результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1

Влияние субстанций на основе мицелия *G. lucidum* LM-8 и *L. sulphureus* LM-11
на показатели неспецифической резистентности

Table 1

The effect of substances on the basis of *G. lucidum* LM-8 and *L. sulphureus* LM-11 mycelium
on indicators of nonspecific resistance

Показатели периферической крови	Группы животных		
	контроль	опытная 1	опытная 2
		грибная субстанция	
		<i>G. lucidum</i>	<i>L. sulphureus</i>
Число лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	$6,9 \pm 0,95$	$6,75 \pm 0,99$	$7,1 \pm 1,05$
Полинуклеарные клетки, %	$48,3 \pm 1,2$	$44,3 \pm 4,5$	$50,2 \pm 3,1$
Мононуклеарные клетки, %	$51,7 \pm 0,95$	$55,7 \pm 6,1$	$49,8 \pm 3,4$
ФП, %	$43,25 \pm 8,9$	$39,3 \pm 9,5$	$26,3 \pm 6,4^*$
ФЧ	$3,8 \pm 0,2$	$3,0 \pm 0,8$	$3,8 \pm 0,15$
НСТ ⁺ -клетки, %	$15,75 \pm 2,8$	$7,7 \pm 3,8^*$	$19,7 \pm 3,5^*$
СЦК	$0,17 \pm 0,03$	$0,08 \pm 0,04^*$	$0,2 \pm 0,02^{**}$
СН 50, усл.ед.	$25,6 \pm 2,4$	$42,8 \pm 1,9^*$	$28,8 \pm 3,4$
АР 50, усл.ед.	$8,4 \pm 1,2$	$7,95 \pm 3,1$	$8,75 \pm 2,2$

*различия достоверны в сравнении с контрольной группой, по критерию Стьюдента $p < 0,01$

**различия достоверны в сравнении опытной группой 1, по критерию Стьюдента $p < 0,01$

Выявлено, что субстанция *G. lucidum* LM-8 модифицирует функциональную активность перитонеальных макрофагов: в использованной дозе субстанция вызывает снижение показателей ФП и ФЧ (поглотительную

способность макрофагов в отношении *S. aureus*). Эта тенденция распространяется и на метаболическую активность перитонеальных макрофагов в НСТ-тесте: субстанция оказывает ингибирующий эффект, проявляющийся достоверным снижением % НСТ⁺-клеток и СЦК. Таким образом, мицелий субстанции *G. lucidum* LM-8 способствует увеличению активности классического пути активации системы комплемента.

Установлено, что субстанция грибного мицелия *L. sulfureus* LM-11 в использованных дозах обладает активностью в отношении факторов видовой иммунитеты: ингибирует метаболическую активность перитонеальных макрофагов в НСТ-тесте. Этот эффект проявляется снижением как % НСТ⁺-клеток, так и снижением СЦК. На фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов мышей и состояние системы комплемента мицелий *L. sulfureus* LM-11 значимого влияния не оказывает.

Влияние субстанций на основе мицелия грибов *G. lucidum* LM-8 и *L. sulfureus* LM-11 на показатели специфического иммунитета. В отношении показателей специфического гуморального иммунитета, индуцированного эритроцитами барана по стандартным схемам, существенных различий между опытной и контрольной группами животных не обнаружено (табл. 2). Большинство эффектов регистрируются на уровне тенденции. Так, субстанция на основе мицелия *G. lucidum* LM-8 способствует некоторому усилению выраженности гуморального иммунного ответа на эритроциты барана, что проявлялось увеличением селезеночного индекса. В отношении числа АОК селезенки данная субстанция способствует снижению числа АОК. Субстанция *L. sulfureus* LM-11 оказывает слабо выраженное ингибирующее влияние на функциональные показатели гуморального иммунного ответа.

Таблица 2

Влияние субстанций на основе мицелия *G. lucidum* LM-8 и *L. sulfureus* LM-11 на показатели специфического иммунитета

Table 2

The effect of substances on the basis of *G. lucidum* LM-8 and *L. sulfureus* LM-11 mycelium on the indicators of specific immunity

Показатели	Группы животных		
	контроль	опытная 1	опытная 2
		грибная субстанция	
		<i>G. lucidum</i>	<i>L. sulfureus</i>
Масса селезенки, г	0,22 ± 0,03	0,19 ± 0,02	0,21 ± 0,06
Селезеночный индекс	0,95 ± 0,03	1,1 ± 0,05	0,94 ± 0,2
Число антителообразующих клеток (АОК) селезенки (в 1000 спленоцитов)	740,0 ± 0,18	620,0 ± 0,13	550,0 ± 0,12
Титр гемагглютининов IgM, log ₂	2,7 ± 0,6	3,0 ± 1,0	2,7 ± 0,6
Титр гемагглютининов IgG, log ₂	3,3 ± 0,6	3,3 ± 1,15	3,0 ± 1,0
Выраженность реакции ГЗТ – индекс ГЗТ, %	4,0 ± 0,87	9,9 ± 2,4*	13,4 ± 5,3*

* различия достоверны в сравнении с контрольной группой, по критерию Стьюдента $p < 0,01$

Основной иммунотропный эффект исследованных препаратов направлен на модификацию клеточного иммунного ответа. Исследованные субстанции грибного мицелия *G. lucidum* LM-8 и *L. sulfureus* LM-11 вызывают стимуляцию ГЗТ, индуцированной эритроцитами барана. Такое соотношение иммунотропных эффектов исследованных препаратов является вполне естественным: как правило, в определенных условиях, ограничиваемых антигеном, модификация активности иммунного ответа охватывает лишь один из возможных механизмов. В данном случае мицелий *G. lucidum* LM-8 и *L. sulfureus* LM-11 в использованной дозе способствуют усилению клеточного иммунного ответа, не оказывая существенного влияния на гуморальный иммунный ответ.

Влияние комбинированной субстанции на основе мицелия грибов *L. sulfureus* LM-11 и *G. lucidum* LM-8 на показатели видовой иммунитеты. Количество лейкоцитов в процессе эксперимента находилось в пределах физиологических значений для мышей во всех исследуемых группах. К концу эксперимента зарегистрирована тенденция к снижению содержания лейкоцитов у животных, получавших комбинированную субстанцию на основе мицелия грибов (КС). Причем отличия в содержании лейкоцитов в данной группе мышей достоверны в сравнении с группой контроля (табл. 3).

Таблица 3

Влияние комбинированной субстанции (КС) на основе мицелия *L. sulfureus* LM-11 и *G. lucidum* LM-8 на количество лейкоцитов в периферической крови и лейкоцитарную формулу мышей

Table 3

The effect of the combined substance (CS) based on the *L. sulfureus* LM-11 and *G. lucidum* LM-8 mycelium on the number of leukocytes in the peripheral blood and the leukocyte formula of mice

Показатели	Группы животных	
	контроль	опытная 3
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	$7,7 \pm 2,6$	$4,4 \pm 1,49^*$
Нейтрофилы п/я, %	$6,89 \pm 4,8$	$6,89 \pm 2,7$
Нейтрофилы с/я, %	$38,2 \pm 7,7$	$41,6 \pm 8,8$
Эозинофилы, %	$4,2 \pm 3,1$	$1,8 \pm 1,6$
Моноциты, %	$3,2 \pm 2,6$	$5,6 \pm 2,5$
Лимфоциты, %	$47,4 \pm 12,9$	$44,2 \pm 8,3$

*различия достоверны в сравнении с контрольной группой, по критерию Стьюдента $p < 0,01$

Анализ лейкоцитарной формулы выявил незначительные изменения, имеющие тенденции к снижению и не сопровождающиеся достоверностью различий в сравнении с контрольной группой мышей. Так, КС приводит к незначительному увеличению численности зрелых форм нейтрофилов и снижению численности эозинофилов. Использование КС способствует мало значимому увеличению численности моноцитов в периферической крови мышей. Следовательно, выявленные изменения могут иметь случайный характер, поскольку выраженность обнаруженных тенденций невелика.

В отношении влияния исследуемой КС на показатели функциональной активности перитонеальных макрофагов обнаружено наличие ингибирующих эффектов в отношении численности способных к фагоцитозу макрофагов, поглотительной способности макрофагов (выявляемой по параметру ФЧ), а также метаболической активности перитонеальных макрофагов (табл. 4). Следует отметить, что в отношении поглотительной способности макрофагов обнаруживается лишь тенденция к снижению параметров ФП и ФЧ. С другой стороны, в опытных группах мышей отмечается увеличение гетерогенности животных по параметрам ФП и ФЧ, что свидетельствует о наличии в группах животных, не ответивших на введение КГС снижением поглотительной способности перитонеальных макрофагов. Итак, можно констатировать наличие у исследованной КС способности ингибировать функциональную активность перитонеальных макрофагов, что, с одной стороны, полезно для контроля ряда форм воспалительных реакций, но, с другой стороны, может негативно влиять на развитие иммунного ответа.

Анализ влияния КС на показатели функциональной активности системы комплемента не показал значимых эффектов: параметры в опытных и контрольной группах были практически на одном уровне (табл. 4).

Таблица 4

Влияние комбинированной субстанции (КС) на основе мицелия *L. sulfureus* LM-11 и *G. lucidum* LM-8 на функциональную активность перитонеальных макрофагов мышей и показатели функциональной активности системы комплемента мышей

Table 4

The effect of the combined substance (CS) on the basis of the *L. sulfureus* LM-11 and *G. lucidum* LM-8 mycelium on the functional activity of mouse peritoneal macrophages, on the indicators of the functional activity of the mouse complement system

Показатели	Группы животных	
	контроль	опытная 3
ФП, %	$30,9 \pm 19,6$	$17,8 \pm 12,7$
ФЧ	$4,8 \pm 2,5$	$3,03 \pm 2,2$
НСТ ⁺ -клетки, %	$12,4 \pm 8,2$	$7,7 \pm 3,6$
СЦК	$0,22 \pm 0,17$	$0,09 \pm 0,04^*$
AP50, усл. ед.	$4,6 \pm 2,6$	$3,2 \pm 2,4$
CH50, усл. ед.	$30,4 \pm 6,3$	$31,8 \pm 7,9$

*различия достоверны в сравнении с контрольной группой, $p < 0,05$

Влияние комбинированной субстанции на основе мицелия *L. sulfureus* LM-11 и *G. lucidum* LM-8 на показатели антигенспецифического (приобретенного) иммунитета. Определение параметров массы тела животных, селезенки и селезеночного индекса при введении КС позволило установить иммунизирующие эффекты, выраженность которых в большей степени отмечается для массы селезенки и селезеночного индекса у экспериментальных животных. Все обнаруженные изменения имеют характер тенденции, за исключением снижения массы тела мышей (табл. 5).

Таблица 5

Влияние комбинированной субстанции (КС) на основе мицелия *L. sulfureus* LM-11 и *G. lucidum* LM-8 на массу тела мышей, массу селезенки и селезеночный индекс в процессе иммунизации эритроцитами барана

Table 5

The effect of the combined substance (CS) on the basis of the *L. sulfureus* LM-11 and *G. lucidum* LM-8 mycelium on the body weight of the mice, the spleen mass and the splenic index in the process of immunization with sheep erythrocytes

Показатели	Группы мышей	
	контроль	опытная 3
Масса тела, г	22,03 ± 1,3	19,5 ± 1,8 *
Масса селезенки, г	0,34 ± 0,13	0,23 ± 0,16
Селезеночный индекс, %	1,55 ± 0,67	1,13 ± 0,76

*достоверность различий в сравнении с контрольной группой, $p < 0,005$

В отношении функциональных параметров приобретенного гуморального иммунного ответа (АОК, титр гемагглютининов) при применении грибной КС четких эффектов не обнаружено (табл. 6).

Таблица 6

Влияние комбинированной субстанции (КС) на основе мицелия *L. sulfureus* LM-11 и *G. lucidum* LM-8 на показатели гуморального и клеточного иммунного ответа мышей при иммунизации их эритроцитами барана

Table 6

The effect of a combined substance (CS) based on the *L. sulfureus* LM-11 and *G. lucidum* LM-8 mycelium on the indices of the humoral and cellular immune response of mice upon immunization with sheep erythrocytes

Показатели	Группы животных	
	контроль	опытная 3
Число АОК (на 10^5 спленоцитов)	132,6 ± 28,6	141,1 ± 39,9
Титр гемагглютининов ($\log_2$)	4,6 ± 1,2	4,1 ± 1,4
Индекс ГЗТ, %	7,13 ± 0,058	17,4 ± 8,6 *
Количество мышей, ответивших по ГЗТ (абс. – % по группе)	3 (33,3 %)	6 (66,7 %)

*достоверность различий в сравнении с контрольной группой, $p < 0,05$

При анализе результатов исследования влияния комбинированной грибной субстанции на клеточный иммунный ответ, регистрируемый по развитию ГЗТ, установлено следующее: иммунизация в использованном режиме инициировала клеточный иммунный ответ у 33,3 % мышей контрольной группы. У мышей, получавших КС, ответная реакция в виде ГЗТ проявилась у 66,7 % особей. Более того, выраженность реакции ГЗТ достоверно выше у животных, принимавших КС.

Заключение

Показано, что субстанции на основе мицелия грибов *L. sulfureus* LM-11 и *G. lucidum* LM-8 не обладают иммуноотоксическим действием при использовании в дозе 50 мг/кг массы животного.

Основной иммуностропный эффект исследованных субстанций сосредоточен на усилении клеточного иммунного ответа, что проявляется достоверным, в сравнении с контрольной группой животных, увеличением индекса ГЗТ. В отношении влияния на функциональную активность перитонеальных макрофагов субстанции оказывают неоднозначные эффекты, что может быть связано с определенным состоянием организма животных (например, наличие условно-патогенных микроорганизмов) в конкретный промежуток времени. Применение субстанции *G. lucidum* LM-8 способствует увеличению функциональной активности классического пути активации системы комплемента.

В ходе изучения влияния комбинированной грибной субстанции на основе мицелия *L. sulfureus* LM-11 и *G. lucidum* LM-8 (в соотношении 1:2 соответственно) установлено, что ее применение вызывает

снижение численности лейкоцитов в периферической крови при сохранении их физиологического уровня и лейкоцитарной формулы. Комбинированная грибная субстанция в использованных дозах ингибирует функциональную активность перитонеальных макрофагов. При этом в отношении метаболической активности макрофагов комбинированная субстанция оказывает максимальный эффект.

Показано, что применение КС в экспериментальных дозах не оказывало влияния на функциональную активность системы комплемента по параметрам AP50 и CH50, на реакции гуморального иммунного ответа, индуцированного эритроцитами барана. Выявлено незначительное снижение массы тела у мышей, получавших КС. Установлены достоверно различимые значения показателей, свидетельствующие о влиянии комбинированной субстанции на основе мицелия грибов *L. sulfureus* LM-11 и *G. lucidum* LM-8 на показатели клеточного иммунного ответа мышей при иммунизации их эритроцитами барана.

Таким образом, исследованные грибные субстанции с учетом выявленных иммуностропных эффектов могут быть востребованы в целях ограничения выраженности воспалительного синдрома, а также применяться как средство вспомогательной терапии для усиления реакций клеточного иммунитета.

Библиографические ссылки

1. Шамцян М. М., Воробейчиков В. Г., Конусова А. С. и др. Иммуномодулирующие свойства высших базидиальных грибов // Цитокины и воспаление. 2012. Т.11, № 1. С. 26–32.
2. Кочунова Н. А. Использование дереворазрушающих грибов класса *Basidiomycetes* в нетрадиционной медицине (Амурская область) // Бюллетень. 2014. Вып. 51. С. 112–117.
3. Булах Е. М. Грибы – источник жизненной силы. Владивосток, 2001.
4. Borchers A. T., Stern J. S., Hackman R. M., et al. Mushrooms, tumors, and immunity // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1999. Vol. 221, № 4. P. 281–293.
5. Wasser S. P. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2002. Vol. 60, № 3. P. 58–74.
6. Хаитов Р. М., Гуцин И. С., Пинегин Б. В. и др. Экспериментальное изучение иммуностропной активности фармакологических препаратов // Вестник фармакологического комитета. 1999. № 1. С. 31–36.
7. Хаитов Р. М., Пинегин Б. В. Современные иммуномодуляторы: основные принципы их применения // Иммунология. 2000. № 5. С. 4–7.
8. Хаитов Р. М., Пинегин Б. В., Латышева Т. В. Методические указания по испытанию новых иммуномодулирующих лекарственных средств // Вестник научного центра экспертизы и государственного контроля лекарственных средств. 2002. № 1. С. 11–21.
9. Бабицкая В. Г., Иконникова Н. В., Пучкова Т. А. и др. Биохимический состав композиций функционально-корректирующих препаратов на основе липид- и полисахаридсинтезирующих грибов // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2010. № 1. С. 237–238.
10. Автономова А. В., Краснопольская Л. М. Противоопухолевые и иммуномодулирующие свойства трутовика лакированного *Ganoderma lucidum* // Микология и фитопатология. 2013. Т. 47, № 1. С. 3–11.
11. Блякхер М. С., Аleshкин А. В., Федорова И. М. и др. Влияние ксилломаннана, выделенного из *Ganoderma lucidum* на продукцию цитокинов мононуклеарами периферической крови человека // Цитокины и воспаление. 2017. Т. 16, № 1–2. С. 27–30.

References

1. Shamtsyan M. M., Vorobeichikov V. G., Konusova A. S., et. al. [Immunomodulatory properties of higher basidiomycetes]. *Cytokines and inflammation*. 2012. Vol. 11, No 1. P. 26–32 (in Russ.).
2. Kochanova N. A. [The Use of wood-destroying fungi of the class Basidiomycetes in alternative medicine (Amur region)]. *Bulletin*. 2014. Issue 51. P. 112–117 (in Russ.).
3. Bulakh E. M. [Mushrooms – a source of vitality]. Vladivostok, 2001 (in Russ.).
4. Borchers A. T., Stern J. S., Hackman R. M., et al. Mushrooms, tumors, and immunity. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1999. Vol. 221, No 4. P. 281–293.
5. Wasser S. P. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2002. Vol. 60, No 3. P. 58–74.
6. Khaitov R. M., Gushchin I. S., Pinegin B. V., et. al. [Experimental study of the immunotropic activity of pharmacological preparations]. *Vedomosti of the pharmacological Committee*. 1999. No. 1. P. 31–36 (in Russ.).
7. Khaitov R. M., Pinegin B. V. [Modern immunomodulators: the main principles of their use]. *Immunology*. 2000. No. 5. P. 4–7.
8. Khaitov R. M., Pinegin B. V., Latysheva T. V. [Methodical instructions on testing of new immunomodulatory drugs]. *Vedomosti scientific center of expertise of state control of drugs*. 2002. No. 1. P. 11–21 (in Russ.).
9. Babitskaya V. G., Ikonnikova N. V., Puchkova T. A., et. al. [Biochemical compositions of functional-correcting preparations on the basis of lipid-and polysaccharide-synthesizing fungi]. *Immunopathology, Allergology, Infectology*. 2010. No. 1. P. 237–238.
10. Avtonomova A. V., Krasnopolskaya L. M. [Antitumor and immuno-modulating properties of tinder of varnished *Ganoderma lucidum*]. *Mycologia and Phytopathology*. 2013. Vol. 47, No 1. P. 3–11.
11. Blyakher M. S., Aleshkin A. V., Fedorova I. M., et. al. [Influence xylomannan-isolated from *Ganoderma lucidum* on cytokine production mononuclear-mi peripheral human blood]. *Cytokines and inflammation*. 2017. Vol. 16, No 1–2. P. 27–30.

Статья поступила в редколлегию 05.02.2019.
Received by editorial board 05.02.2019.