

УДК 615.32:615.281:615.37

ДОСЛІДЖЕННЯ СПЕЦИФІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ТА АНТИМІКРОБНОЇ ДІЇ ПОРОШКУ ГРИБА ШІЙТАКЕ (*Lentinus edodes*)

Бобрицька Л.О., Попова Н.В., Осолодченко Т.П.,¹
Федоритенко Н.О.²
Національний фармацевтичний університет

¹ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.
Мечникова НАМН України»

² Національний медичний університет ім. О.О.
Богомольця

В даний час в світі, в тому числі і в Україні спостерігається тенденція до застосування високоактивних антимікробних препаратів системної дії для лікування інфекційно-запальних захворювань різних органів людини, які викликаються герпесвірусами, бактеріями, і найпростішими та впливають на стан імунної системи та рівень життя. Порушення імунної відповіді супроводжується зниженням загальної кількості Т- і В-клітин, зміною їх функціональної активності, порушенням макрофагальної ланки імунітету, в системі інтерферону, що і є головною причиною виникнення вірусних захворювань, в тому числі простого герпесу. Тому найчастіше використовують комплексний метод лікування з включенням імунотерапії (специфічної і неспецифічної). Неспецифічна імунотерапія включає в себе використання: 1) імуноглобуліну; 2) інтерферонів та індукторів інтерферону; 3) препаратів, що стимулюють Т і В ланки клітинного імунітету і фагоцитоз.

Тому корекція імунітету при таких захворюваннях залишається на сьогодні однією з найважливіших проблем сучасної медицини.

Особливий інтерес серед імуностимулюючих засобів викликають препарати рослинного походження, в тому числі на основі грибів, а саме гриба Шіїтаке (*Lentinus edodes*), які вигідно відрізняються від синтетичних аналогів біологічною спорідненістю до тканин організму, низькою токсичністю та м'якою дією, що знижує ризик виникнення алергічних реакцій. Основним діючим компонентом з грибів є полісахаридна фракція [1-10].

За даними літератури відомо, що фармакологічна активність діючих речовин з гриба Шіїтаке надзвичайно широка та використовується при слабкій імунній системі як імуномодулятор для підвищення загального опору організму при інфекційних захворюваннях, що спричинені бактеріями, грибами, паразитами, вірусами (герпесу, стоматиту, гепатиту, грипу, СНІДу), для лікування різноманітних пухлин, атеросклерозу, неврологічних та інших захворювань. Імуномодулююча властивість гриба Шіїтаке проявляється за рахунок активної речовини полісахаридної природи – лентинану, яка

активує макрофаги, стимулює ріст Т-лімфоцитів, що збільшує виробництво антитіл, інтерлейкінів та інтерферону [1-10]. Механізм імуномодулюючої дії лентинану [1] наведений на рис. 1.

Світовими лідерами по виробництву гриба Шіїтаке (культивується вже понад 2000 років) є Японія, Китай, Корея, США, Канада. Біологічна активність компонентів гриба залежить від ефективного субстрату, умов та методів культивування. До складу гриба Шіїтаке входять протеїни, вуглеводи, вітаміни (С, В₁, В₂, В₁₂, В₆, Е, Д₂), мінерали, водорозчинні полісахариди (лентинан), глікогенподібні полісахариди, жирні кислоти та інші речовини [1].

Метою роботи є дослідження специфічної імуностимулюючої дії порошку гриба Шіїтаке, а також вивчення антибактеріальної активності.

Матеріали та методи

Дослідження специфічної активності проводили на базі Українського наукового гігієнічного центру (м. Київ). Досліджували повторний тривалий вплив порошку гриба Шіїтаке на етапи формування адаптаційних і компенсаторних процесів і розвиток можливих патологій [11]. На відміну від адаптації, що забезпечує збереження реакції в межах фізіологічних коливань, компенсація спрямована на тимчасове відшкодування функцій ушкоджених структур у процесі несприятливого впливу. Тест об'єктами були безпородні білі пацюки з вихідною масою тіла 80-100 г у кількості 80 тварин для проведення хронічного експерименту. Програма досліджень складена відповідно до рекомендацій комісії з координації робіт в області одержання безпечних продуктів харчування. Відповідно до цього лабораторні тварини контрольної групи одержували казеїн, що є єдиним джерелом білка в їхньому раціоні, а три групи досліджуваних тварин одержували корм із частковою заміною білка казеїну, білком грибного порошку Шіїтаке. Залежно від того, який продукт є джерелом білка, всі тварини були розподілені на групи: перша (контрольна), одержували корм, джерелом білка в якому є казеїн; друга, третя і четверта - одержували раціон, у яких відповідно 5 %, 10 % і 25 % білка казеїну замінені білком грибного порошку. Для всебічної оцінки імуномодулюючої дії сухого порошку гриба Шіїтаке в комплекс досліджень були включені тести, що дозволяють охарактеризувати стан неспецифічної резистентності, клітинної й гуморальної ланок імунітету, а також виявити наявність гіперчутливості вповільненого й негайного типів в експериментальних тварин, що одержували порошок гриба Шіїтаке. У комплекс увійшли тести: визначення загальної кількості лейкоцитів; визначення лейкоцитарної формули; визначення фагоцитарної активності нейтрофілів; визначення відносної й абсолютної кількості Т- і В-лімфоцитів методами Е- (Е-РОК) і Еас- (Еас-РОК) - розеткоутворення.

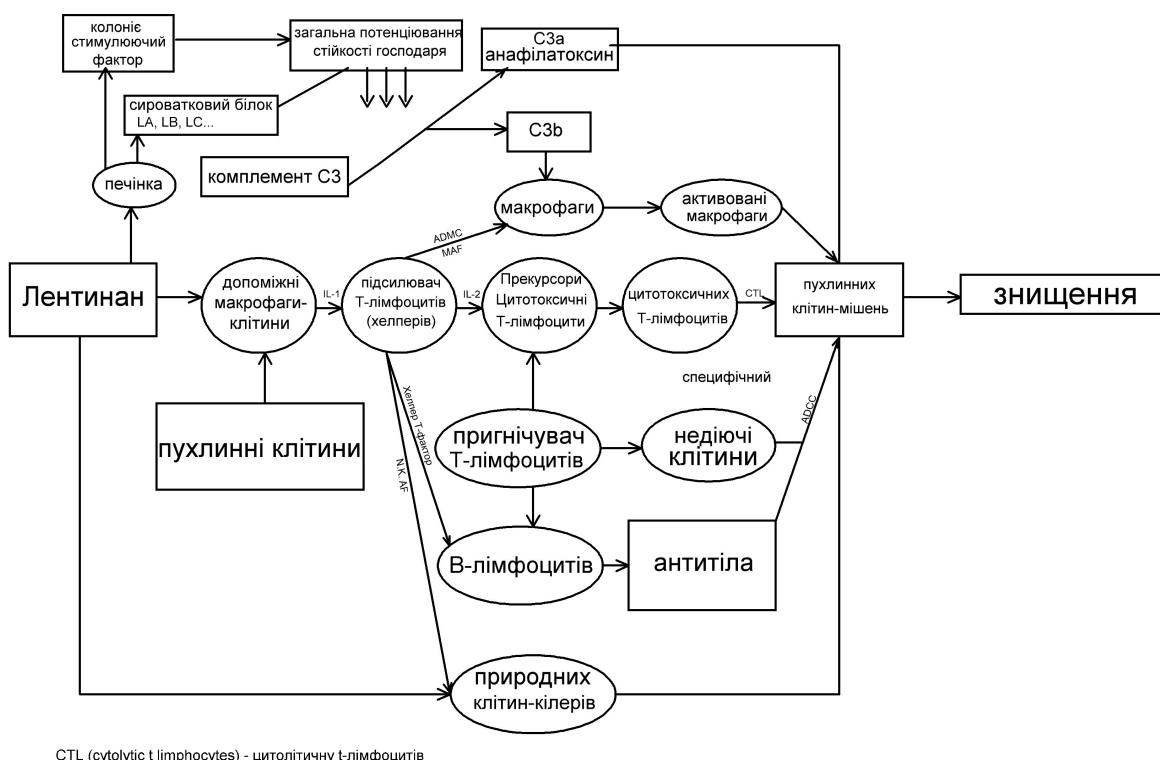


Рис. 1. Механізм імуномодельючої дії лентинану

Референтним є препарат Ехінацея-Ратіофарм у вигляді таблеток (виробництва Німеччини).

Вивчення антибактеріальних властивостей порошку гриба Шіїтаке проводили методом дифузії в агар в лабораторії біохімії мікроорганізмів та поживних середовищ ДУ «ІМІ ім. ІІ. Мечникова НАМНУ». Відповідно до рекомендацій ВООЗ для оцінки активності препаратів використовували референтні тест-штами: *Staphylococcus aureus* ATCC 26923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Basillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 885/653. Мікробне навантаження складало 10^7 мікробних

клітин на 1 мл середовища та встановлювалось за стандартом McFarland. В роботі використовували 18-24 годинну культуру мікроорганізмів. Для досліджень використовували агар Мюллера-Хінтона (Дагестанський НДІ поживних середовищ). За методикою «колодязів» проводили визначення антибактеріальної активності на двох шарах щільного живильного середовища, розлитого в чашки Петрі.

Результати та їх обговорення

Показники імунного статусу тварин, що одержували порошок гриба Шіїтаке (табл.1) свідчать, досліджуємий продукт має імуномодулюючу дію.

Таблиця 1 - Показники імунного статусу тварин, що одержували порошок гриба Шіїтаке

Група тварин	Лейк оцити	Лімфоцити		Нейтрофіли		Е-РОК (Т- лімфоцити)		Еас-РОК (В-лімфоцити)	
	10 ⁹ /л	%	10 ⁹ /л	%	10 ⁹ /л	%	10 ⁹ /л	%	10 ⁹ /л
1 група (контроль)	17,8± 0,9	79,2 ±1,4	14,1± 0,9	14,0 +1,5	2,5± 0,3	20,2± 1,6	2,8± 0,1	16,2± 1,3	2,2± 0,1
2 група	19,0± 0,5	84,0 ±2,0	15,9± 0,5	15,6 ±1,2	2,9+ 0,3	21,8± 1,7	3,4± 0,3	17,4± 1,2	2,8± 0,2
3 група	20,3± 0,9	82,2 ±0,9	16,7± 0,9	15,4 ±1,2	3,4± 0,3	22,0± 1,4	3,7± 0,4	19,4± 2,1	3,3± 0,4

4 група	16,2± 0,8	78,2 ±1,3	12,7± 0,6	12,2 ±0,9	2,0+ 0,2	24,0+ 1,6	3,5± 0,3	21,2±0 ,7	2,7± 0,2
Препарат порівняння	18,8± 0,6	84,9 ±1,1	16,1± 0,8	15,4 ±1,0	3,1± 0,2	21,6± 1,4	3,5± 0,3	17,9± 1,1	2,3± 0,3

Примітка. N=5

Споживання 25% дози сухого порошку гриба на ранніх етапах експерименту викликало ряд змін показників неспецифічної резистентності, у тому числі фагоцитарної активності, а також Т-системи імунітету. До кінця експерименту (6 місяців) показники Т-ланцюга імунної системи, а також факторів неспецифічного захисту організму нормалізувалися, а В-системи - залишалися підвищеними при споживанні всіх вивчених доз препарату. Зазначений факт можна пояснити стимулюючою дією біологічно активних речовин гриба Шіітаке на процес дозрівання й диференціювання імунокомпетентних клітин. Референтний препарат також проявляв імуномодулюючу дію, але показники мали значення дещо нижчі. У той же час, активація В-системи імунітету виявилася у тварин не тільки 4 групи, але і у 2 і 3 групах. Причому, якщо в попередній період (3

місяці) відзначалося підвищення відносного вмісту Еас -РОК тільки в 4 групі, то до кінця 6-го місяця експерименту був установлений ріст абсолютної кількості В-клітин у всіх досліджених групах. Значне підвищення ступеня розпластування макрофагів під впливом сироваток тварин, які одержували кожен з досліджуваних доз порошку Шіітаке протягом експерименту, свідчить про стимулюючий вплив продукту на лімфокинпродукуючу здатність Т-клітин. При цьому фагоцитарна активність нейтрофільних гранулоцитів у щурів, що одержували 25% дозу, вірогідно підвищувалася, що може свідчити про стимулюючий вплив даної дози продукту на функціональну активність фагоцитів крові.

Антимікробна активність порошку гриба Шіітаке наведена в табл. 2.

Таблиця 2 Антимікробна активність порошка гриба Шіітаке щодо аеробних бактерій та грибів

Тест культури	Діаметри зон затримки росту мікроорганізмів, мм
	Порошок гриба Шіітаке
Staphylococcus aureus ATCC 26923	13,5+2,1
Escherichia coli ATCC 25922	14,2+1,2
Bacillus subtilis ATCC 6633	13,4+1,5
Candida albicans ATCC 653/885	15,2+1,3

Примітка. n=3

Як видно з табл. 2, порошок гриба Шіітаке виявляє помірну антибактеріальну дію до бактерій (*Staphylococcus aureus* ATCC 26923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633) та грибів (*Candida albicans* ATCC 653/885).

Висновки

1. Дослідження специфічної активності (визначення загальної кількості лейкоцитів; визначення фагоцитарної активності нейтрофілів; визначення відносної й абсолютної кількості Т- і В-лімфоцитів методами Е- і Еас-розеткоутворення) показали, що порошок гриба Шіітаке проявляє імуномодулюючу дію та в перспективі може використовуватись для корекції імунітету в комплексній терапії для лікування різних інфекційно-запальних захворювань.
2. Порошок гриба Шіітаке володіє помірною антимікробною активністю відносно аеробних (*Staphylococcus aureus* ATCC 26923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633) бактерій та грибів (*Candida albicans* ATCC 653/885).

References

1. *Lentinus edodes*: A Macrofungus with Pharmacological Activities/ P.S. Bisen, R.K. Baghel, B.S. Sanodiya [et al.] // Current Medicinal Chemistry. – 2010. – № 17. – P. 2419-2430.
2. Wasser S.P. *Medicinal Mushrooms. Lentinus edodes (Berk.) Singer, Shitake Mushroom* / S.P. Wasser, A.L. Weis. - Ed.: Peledfus Publ. House: Haifa, Israel, 1997; 95 p.
3. Hobbs Ch. Medicinal value of *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. A literature review / Ch. Hobbs // Int. J. Med. Mushr. – 2000. - № 2. – P. 287-302.
4. Wasser S.P. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides / S.P. Wasser // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2002. - № 60. – P. 258-274.
5. Yap A.T. Immunopotentiating properties of lentinan (1-3)-p-D-glucan extracted from culinary-medicinal shiitake mushroom *Lentinus edodes* (Berk.) Singer (Agaricomycetidae) / A.T. Yap, M.L. Ng // Int. J. Med. Mushr. - 2003. - № 5. – P. 352-372.
6. Yap A.T. An improved method for the isolation of lentinan from the edible and medicinal shiitake mushroom, *Lentinus edodes* (Berk.) Sing.

- (Agaricomycetidae) / A.T. Yap, M.L. Ng // Int. J. Med. Mushr. – 2001 - № 3. – P. 9-20.
7. Effect of a mushroom mycelium extract on the treatment of prostate cancer / R.W. DeVere White, R.M. Hackman, S.E. Soares [et al.] // Urology. – 2002. - № 60. – P. 640-644.
8. Ngai P.H.K. Lentin, a novel and potent antifungal protein from shiitake mushroom with inhibitory effects on activity of human immunodeficiency virus-1 reverse transcriptase and proliferation of leukemia cells / P.H.K. Ngai, T.B. Ng // Life Sci. – 2003. - № 73. – P. 3363-3374.
9. Screening of Basidiomycetes for antimicrobial activities / I. Suay, F. Arenal, F.J. Asensio [et al.] // Antonie van Leeuwenhoek. – 2000. - № 78. – P. 129-139.
10. Sarkar S. Antiviral effect of the extract of culture medium of *Lentinus edodes* mycelia on the replication of herpes simplex virus type 1 / S. Sarkar // Antiviral Res. – 1993. - № 20. - P. 293-303.
11. Kovalenko, V.N. Pre-clinical drugs testing [Text] / V.N. Kovalenko, A.V. Stefanov, Yu.N. Maximov. – K., 2001. – P. 78-107.

УДК 615.32:615.281:615.37
ДОСЛІДЖЕННЯ СПЕЦИФІЧНОЇ АКТИВНОСТІ
ТА АНТИМІКРОБНОЇ ДІЇ ПОРОШКУ ГРИБА
ШИІТАКЕ (*Lentinus edodes*)

Бобрицька Л.О., Попова Н.В., Осолодченко Т.П., Федоритенко Н.О.

Встановлено, що порошок гриба Шиїтаке проявляє імуномодельючу дію та в перспективі може використовуватись для корекції імунітету в комплексній терапії при лікуванні різних інфекційно-запальних захворювань. Визначена помірна антимікробна активність відносно аеробних (*Staphylococcus aureus* ATCC 26923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633) бактерій та грибів (*Candida albicans* ATCC 653/885).

Ключові слова: імуностимулююча дія, порошок гриба Шиїтаке, антибактеріальна активність

УДК 615.32:615.281:615.37
ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ
АКТИВНОСТИ И АНТИМИКРОБНОГО
ДЕЙСТВИЯ ПОРОШКА ГРИБА ШИИТАКЕ
(*Lentinus edodes*)

Бобрицкая Л.А., Попова Н.В., Осолодченко Т.П., Федоритенко Н.А.

Установлено, что порошок гриба Шиитаке проявляет иммуномодулирующее действие и в перспективе может использоваться для коррекции иммунитета в комплексной терапии при лечении различных инфекционно-воспалительных заболеваний. Определена умеренная антимикробная активность в отношении аэробных (*Staphylococcus aureus* ATCC 26923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633) бактерий и грибов (*Candida albicans* ATCC 653/885).

Ключевые слова: иммуностимулирующее действие, порошок гриба Шиитаке, антибактериальная активность

UDK 615.32:615.281:615.37
THE STUDY OF IMMUNOMODULATORY AND
ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SHIITAKE
MUSHROOMS POWDER (*Lentinus edodes*)

Bobritskaya L.A., Popova N.V., Osolodchenko T.P., Fedoritenko N.A.

It was found that Shiitake mushroom powder exhibited immunomodulatory effects and it could be used in perspective for immunity correction in the complex therapy for the treatment of various infectious and inflammatory diseases. It had moderate antimicrobial activity against aerobic bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC 26923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633), and fungi (*Candida albicans* ATCC 653/885).

Key words: immunopotentiating activity, shiitake mushroom powder, antibacterial activity