

Е.О. Ятченко¹, Н.А. Бісько², П.Д. Пашнєв³, В.П. Попович⁴, Н.О. Федоритенко⁴

ІМУНОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ БІОМАСИ ПОРОШКУ ГРИБА ШИІТАКЕ

¹Український науковий гігієнічний центр, м. Київ,

²Інститут ботаніки ім. М.Г.Холодного НАН України, м. Київ,

³Національний фармацевтичний університет, м. Харків,

⁴Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ

Ключові слова: біомаса гриба Шіітаке, імунологічні дослідження, амінокислоти.

Ключевые слова: биомасса гриба Шиттаке, иммунологические исследования, аминокислоты.

Key words: biomass of mushroom Shiitake, immunotoxicology studing, aminoacid.

Проведено імуноксикологічну оцінку впливу сухого порошку їстівного гриба Шіітаке на тваринний організм протягом 6 місяців. Встановлено, що сухий порошок гриба Шіітаке має імуностимулюючу дію і може бути рекомендований в лікувально-профілактичному харчуванні.

Проведена иммуноксикологическая оценка влияния сухого порошка съедобного гриба Шиитакэ на животный организм на протяжении 6 месяцев. Определено, что сухой порошок гриба Шиитакэ имеет иммуностимулирующее действие и может быть рекомендован в лечебно-профилактическом питании.

Imunotoxicology studing of the leading of dry powder of mushroom Shiitake on the animal's organism during 6 months. It is established that dry powder of mushroom Shiitake has immunomodulating action and can be recommended for prophylactic diet as bioactive substance.

Радіоактивне забруднення, наявність чужорідних речовин (важкі метали, отрутохімікати, пестициди, нітрати) у харчових продуктах поряд з полідефіцитним, незбалансованим харчуванням, негативно впливають на стан здоров'я населення України і є причиною підвищення рівня захворювань аліментарного генезу. Поряд із цим відзначається хронізація хвороб, ріст алергічних і онкологічних захворювань, підвищення числа генетичних каліцтв і порушень у процесі розвитку [1, 2].

Тривалий час ведеться інтенсивний пошук засобів і методів, що базуються на перевазі в харчовому раціоні речовин з антиоксидантною активністю, яким належить провідна роль серед не медикаментозних методів профілактики захворювань у тому числі й раку [3, 4].

У багатьох країнах світу їстівні гриби використовуються не тільки як харчові продукти і – джерела харчового білка, але і як цінна сировина для одержання речовин лікувально-профілактичної й лікувальної дії [5].

Шіітаке (*Lentinus edodes* /Berk./ Sing.) є одним з найбільш перспективних для культивування видів їстівних грибів. Його виробництво зросло у світі за останні 5 років на 65% і досягло 527 тис. тонн на рік. Шіітаке посідає третє місце по світовому виробництву після печериці та вешенки. Цей гриб є не тільки корисним харчовим продуктом, але й становить інтерес у зв'язку з його багатоплановим застосуванням з лікувально-профілактичною метою. Серед метаболітів, які продукує Шіітаке, є речовини, що володіють радіопротекторним, протипухлинним, антивірусним впливом, сприяють зміцненню імунної системи. Також біологічно активні речовини Шіітаке знижують вміст холестерину, зменшують згортання крові, мають антигрибкову й антибактеріальну дії [5,6].

Проаналізувавши дані літератури, ми прийшли до висновку, що гриб Шіітаке є цінною сировиною для лікувально-профілактичного харчування, з імуномодулюючими властивостями. Разом з тим, є дані про побічні ефекти,

викликані різними компонентами Шіітаке.

Тому, ми вирішили провести імуноксикологічне тестування нового перспективного для використання на території України лікувально-профілактичного продукту – сухого порошку із гриба Шіітаке. Дослідження проводилось на базі лабораторії Українського наукового гігієнічного центру, м. Київ.

Об'єктом дослідження служили висушена біомаса гриба Шіітаке, вирощена біотехнологічним методом [7]. Біомаса висушувалась і здрибнювалась до порошку.

Тест об'єктами були безпородні білі пацюки з вихідною масою тіла 80-100 г у кількості 80 тварин для проведення хронічного експерименту протягом 6 місяців. Залежно від того, який продукт є джерелом білка в кормі, всі тварини були розподілені на групи: I (контрольна), одержували корм, джерелом білка в якому є казеїн; II, III і IV – одержували раціон, у яких відповідно 5%, 10% і 25% білка казеїну замінені білком грибного порошку.

Програма досліджень складена згідно рекомендацій комісії з координації робіт в галузі одержання безпечних продуктів харчування об'єднаного комітету ФАО/ВООЗ [8, 9].

Для всебічної оцінки імуномодулюючої дії сухого порошку із гриба Шіітаке 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 тестований препарат. У комплекс увійшли наступні тести: визначення загальної кількості лейкоцитів; визначення лейкоцитарної формули; визначення фагоцитарної активності нейтрофілів [10]; визначення відносної й абсолютної кількості Т- і В-лімфоцитів методами Е- і Еас-розеткоутворення [10]; реакція дегрануляції базофілів по Шеллі [11]; реакція гальмування розпластування макрофагів [10].

В останнє десятиліття все більшу увагу дослідники звертають на порушення процесів вільнорадикальної

Показники імунного статусу тварин, що одержували сухий порошок гриба Шіїтаке протягом 6 місяців (n = 5, дані наведені в M±m)

Група тварин	Лейкоцити	Лімфоцити		Нейтрофіли		Е-РОК		ЕАС-РОК		Активно фагоцитуючі клітини	
	109/л	%	109/л	%	109/л	%	109/л	%	109/л	%	109/л
1 група (контр.)	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	90,6±1,3	2,3±0,3
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*	95,0±1,9	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*	94,2±1,2	3,2±0,3
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	3,0±0,3	21,2±0,7*	2,7±0,2*	92,0±1,5	1,8±0,2

Примітка: * - зазначені достовірні розходження (P < 0,05)

окисації ліпідів, оскільки нагромадження продуктів їх окисної окисації є неспецифічною ланкою в розвитку багатьох захворювань. Тому, лабораторні дані вмісту продуктів пероксидної окисації ліпідів можуть нести в собі інформацію про ступінь виразності патологічного процесу [8]. У проведених дослідженнях ми визначали інтенсивність процесів пероксидної окисації ліпідів на рівні мікросом печінки й нирок, а також визначали ступінь окисації атерогенних ліпопротеїдів сироватки крові.

Отримані дані свідчать про те, що споживання експериментальними тваринами сухого грибного порошку Шіїтаке в 50 % заміні приводило до стійкого гальмування окисаційних процесів у тканинах печінки та нирок. Так, нами відзначені статистично значимі розходження рівня малонового діальдегіду мікросомальної фракції печінки й нирок пацюків 4 групи після завершення 6 місяців від початку експерименту (p < 0,05). Така ж спрямованість динаміки й іншого показника пероксидної окисації ліпідів – гідрпероксидів ліпідів мікросом печінки й нирок. Отже, проведений експеримент дозволив встановити, що включення в раціон лабораторних тварин сухого порошку гриба Шіїтаке позитивно впливає на антиоксиданту систему й процеси окисації ліпідів в організмі теплокровних тварин.

Для виявлення реакції гіперчутливості негайного типу в тесті дегрануляції базофілів використовували три антигени: тканевий антиген, виготовлений з печінки інтактних пацюків [11] для виявлення можливого розвитку аутоалергічної реакції; повний антиген із гриба, у вигляді водного екстракту порошку; полісахаридний антиген, отриманий шляхом автоклавування розчиненого у воді порошку гриба, з наступним повторним центрифугуванням при 5 тис. об/хв. Як другий антиген використовували надосадову рідину. Останні два антигени використовувалися для виявлення антитіл реактивного типу до специфічних грибних антигенів. Для дослідження брали периферичну кров тварин, отриману із хвостової вени.

Підсумовуючи проведені імуноксикологічні тестування сухого порошку із гриба Шіїтаке можна зробити висновок, що зазначений продукт має імуномодулюючу дію. Споживання агравованої (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 продукту. Зазначений факт можна пояснити стимулюючою дією біологічно активних речовин гриба Шіїтаке на процес дозрівання й диференціювання імунокомпетентних клітин [12]. Отримані результати представлені в таблиці 1

Вивчаючи показники імунного статусу, ми не виявили істотних відхилень в Е-розеткоутворюючій активності Т-клітин у жодній групі досліджених тварин, як і в попередній період.

У той же час, активація В-системи імунітету виявилася у тварин не тільки 4 групи, але й в 2 і 3 досліджених групах. Причому, якщо в попередній період відзначалося підвищення відносного вмісту ЕАС-РОК тільки в 4 групі, то до кінця 6-го місяця експерименту було встановлено ріст абсолютної кількості В-клітин у всіх дослідних групах.

Значне підвищення ступеня розпластування макрофагів у РТММ під впливом сироваток тварин, які одержували кожну з досліджуваних доз сухого порошку Шіїтаке протягом експерименту, свідчить про стимулюючий вплив продукту на лімфокінпродукуючу здатність Т-клітин. Беручи до уваги розвиток слабкої гіперчутливості за негайним типом, тривалі відхилення в В-ланці імунної системи, особливо при споживанні агравованої (25%) дози сухого порошку Шіїтаке, варто рекомендувати контроль дози споживання цього гриба в їжу.

У динаміці експерименту в ранній період спостерігалася стимуляція фагоцитарної активності нейтрофілів з наступним достовірним зниженням абсолютного числа активно фагоцитуючих клітин при споживанні 5 % і 25 % сухого порошку гриба Шіїтаке. До 6-ти місячного терміну показники фагоцитозу у всіх досліджуваних групах відповідали контрольним величинам. Згідно даних літератури, стимулюючу дію на фагоцитуючу здатність нейтрофілів у ранній термін споживання досліджуваного продукту можуть чинити амінокислота аргінін і залізо, що втримуються в грибах у легкодоступній формі.

ВИСНОВОК

Враховуючи те, що навіть довготривале приймання про-



тягом 6 місяців найбільшої дози сухого порошку гриба Шийтаке не приводило до розвитку гіперчутливості як негайного, так і вповільненого типу, можна рекомендувати його в лікувально-профілактичному харчуванні як перспективний імуномодулюючий продукт.

ЛІТЕРАТУРА

1. Виноградов Г.И., Винарская Е.И., Науменко Г.Н. // Лабораторное дело. – 1989. – № 6. – С. 339-341.
2. Комаров Ф.И., Коровников Б.Ф., Меньшиков В.В. Биохимические исследования в клинике. – 2-е изд., перераб. и доп., – Л.: Медицина, 1981. – с. 407
3. Колесова О.Е., Маркин А.А., Федорова Т.Н. Перекисное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах // Лаб. дело. – 1984. № 9. – С. 540 – 546.

4. Современные методы в биохимии / Под. Ред. В.Н. Орехович. – М.: Медицина, 1977, – 392 с.
5. Лакин Т.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1980. – 293 с.
6. Меркулов Г.А. Курс патологической техники. – Л.: Медгиз. 1962. 340 с.
7. Сотникова Е.Н., Дракина Л.В., Исаев В.А и др. // Вопросы питания. – 1993. – № 4. – С. 41-44.
8. Scherba V.V., Babitskay V.G., Truchonovec V.V., Fomina V.I., Bisko N.A., Mitropolskaya N.Y. // Intern. Journal of Medicinal Mushrooms. 1999, v.1, N.2 p.181-185.
9. Hobbs Ch. // - Santa Cruz: Botanica Press, 1995. – P. 125-139.
10. Mizuno T. // Food Rev. Int. - 1995. – Vol. 11, № 1. – P. 111-128.
11. Mizuno T. // Food Rev. Int. - 1995. – Vol. 11, № 1. – P. 7-21.
12. Hashimoto.A, Katagiri M., Torii S. et al. //Prostaglandins. – 1988. – Vol.36, №1. – P. 3-16.

Відомості про авторів:

Е.О. Ятченко, к.тех.н., Український гігієнічний центр, м. Київ.

Н.А. Бісько, д.біол.н., інститут ботаніки ім. М.Г.Холодного НАН України, м. Київ.

П.Д. Пашнев, д.біол.н., НфаУ, м. Харків.

В.П. Попович, к.фарм.н., Національний медичний університет ім. О.О.Богомольця, м. Київ.

Н.О. Федоритенко, аспірант, Національний медичний університет ім. О.О.Богомольця, м. Київ.

Контактна адреса:

E-mail: fedoritenko-nata@mail.ru, тел.: 0509597926