



УДК 615.32+612.08:582.284

**ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ СУХОГО ПОРОШКА  
БИОМАССЫ ЛЕКАРСТВЕННОГО ГРИБА FLAMMULINA VELUTIPES**

**STUDY OF MEDICINAL MUSHROOM FLAMMULINA VELUTIPES BIOMASS DRY  
POWDER IMMUNOMODULATORY EFFECT**

**Т.А. Буткевич<sup>1</sup>, М.Л. Сятыня<sup>1</sup>, В.П. Попович<sup>2</sup>  
T.A. Butkevych<sup>1</sup>, M.L. Syatynya<sup>1</sup>, V.P. Popovych<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца  
Украина, 01601, г. Киев, ул. Пушkinsкая, 22, ком. 501*

<sup>2</sup> *ООО «ПТФ «ЭКМИ»  
Украина, 08720, Киевская обл., Обуховский р-н, г. Украинка, ул. Промышленная, 5*

<sup>1</sup> *Bogomolets National Medical University  
Ukraine, 01601, Kyiv, Pushkinska Street, 22, room 501*  
<sup>2</sup> *Limited liability manufacturing and trading company «ACME»  
Ukraine, 08720, Kiev region, Obukhov district, Ukrainka, Industrial St., 5*

*E-mail: but-t@ukr.net*

**Ключевые слова:** лекарственный гриб, биомасса, Flammulina velutipes, гематологические показатели, иммуномодулирующее действие.

**Key words:** medicinal mushroom, biomass, Flammulina velutipes, hematology, immunomodulatory effect.

**Аннотация.** Применение природных иммуностимулирующих средств активизирует функциональную деятельность организма и повышает его устойчивость к неблагоприятным факторам окружающей среды. Лекарственные грибы являются перспективным источником важных биологически активных веществ. Целью работы было определение влияния биомассы Flammulina velutipes на гематологические показатели и лейкоцитарную формулу периферической крови мышей. Исследование периферической крови мышей в условиях введения сухого порошка лекарственного гриба в трех дозировках (70, 106 и 140 мг/кг) показало его иммуномодулирующее действие (рост общего количества лейкоцитов и нейтрофилов).

**Resume.** Usage of natural immunostimulatory drugs activates the functional activity of the organism and increases its resistance to adverse environmental factors. Medicinal mushrooms are a promising source of important biologically active substances. The aim of the work was to determine the influence of Flammulina velutipes biomass on hematological signs and peripheral blood leukocyte in mice. Investigation of the peripheral blood of mice in terms of medicinal mushroom`s dry powder administration in three doses (70, 106 and 140 mg/kg) revealed its immunomodulatory effects (increase in the total number of leukocytes and neutrophils).

---

## Введение

Актуальной задачей современной медицинской науки остается поиск путей снижения влияния негативных факторов окружающей среды на организм человека путем улучшения их иммунного статуса за счет использования различных препаратов, в том числе полученных из природного сырья. Последние годы ведется активная работа по исследованию лекарственных грибов как продуцентов важных биологически активных веществ, которые способны проявлять широкий спектр фармакологической активности. Особое внимание привлекают новые методы получения исследуемых объектов



– методы биотехнологического синтеза мицелиальной биомассы гриба в четко контролируемых условиях на различных субстратах.

Сотрудниками кафедры аптечной и промышленной технологии лекарств Национального медицинского университета имени А.А. Богомольца (г. Киев, Украина) на базе отдела микологии Института ботаники имени Н.Г. Холодного Национальной академии наук (НАН) Украины и лаборатории процессов экстракции растительного сырья и биоконверсии Государственного Учреждения (ГУ) «Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины» был проведен комплекс исследований по изучению особенностей роста лекарственного гриба *Flammulina (F.) velutipes* на субстратах растительного происхождения (отходах пищевой и маслоэкстракционной промышленности) в условиях поверхностной и глубинной культуры [Буткевич и др., 2013; Butkevych et al., 2014].

### Цель

Целью нашей работы было определение иммуномодулирующего действия сухого порошка биомассы *F. velutipes* – перспективной субстанции для создания лекарственных и лечебно-профилактических средств. Для этого изучали влияние исследуемых препаратов (в разных дозировках) на гематологические показатели и лейкоцитарную формулу периферической крови мышей-самцов.

### Материалы и методы исследования

Объектом исследования был сухой порошок биомассы (СПБ) лекарственного гриба *F. velutipes* полученный культивированием штамма *Flammulina velutipes (Curtis) Singer 1878* из коллекции культур шляпочных грибов (IBK) Института ботаники имени Н.Г. Холодного НАН Украины. В качестве питательной комплексной среды для культивирования биомассы использовали CO<sub>2</sub>-шрот амаранта – побочный продукт экстракции жидким углекислым газом семян *Amaranthus caudatus L.* сорта «Гелиос» (опытное производство ГУ «Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины» (г. Киев) и ПВКФ «Ганоль» (г. Кировоград)).

Для эксперимента были отобраны мыши-самцы линии СВА/с массой 20–22 г. Биологические тест-системы разделили на отдельные группы по 6 мышей в каждой. Первая группа – интактные животные (контроль), животным 2–4 групп 14 суток внутрижелудочно с помощью металлического зонда вводили водную суспензию сухого порошка исследуемой субстанции в трех дозировках: 400, 600 и 800 мг/кг, с учетом коэффициента видовой чувствительности для мышей (12.3) [Guidance for Industry and Reviewers, 2002] – 70, 106 и 140 мг/кг массы тела, 5 группа – мышам данной группы вводили препарат сравнения (таблетки Эхинацеи производства Астра-Фарм, Украина) в дозе 106 мг/кг (рекомендуемая доза согласно инструкции по применению).

Индивидуальные дозы для введения препарата животным рассчитывали в мл и мг с учетом еженедельных изменений массы тела. Через 24 ч после последнего введения мышам исследуемых препаратов в условиях легкого эфирного наркоза получали образцы крови для гематологических исследований, после чего осуществляли эвтаназию методом цервикальной дислокации.

Дифференциальный подсчет типов лейкоцитов в мазках периферической крови животных проводили после окрашивания по методу Романовского-Гимза [Луцик и др., 2011]. Образцы крови были исследованы в день их получения. Кровь для гематологических исследований, отобранную в пробирки с калия этилендиаминтетрауксусной кислотой (KABE Labortechnik), анализировали на автоматическом гематологическом анализаторе Mythic 18 (Швейцария). Математическая обработка полученных данных проводилась с использованием MS Excel. Данные приводили как среднее значение ± погрешность среднего значения ( $M \pm m$ ). Анализ достоверности результатов эксперимента проводился с использованием модуля однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Разницу между показателями считали статистически достоверной при значении  $p < 0.05$  [Антономов и др., 2006].

### Результаты и их обсуждение

В таблице 1. приведены данные изменений показателей периферической крови мышей, которые в течение 14 дней получали СПБ лекарственного гриба *F. velutipes* в трех дозировках и препарат сравнения.

Таблица 1  
Table. 1

**Гематологические показатели у мышей в условиях внутрижелудочного введения сухого порошка биомассы *F. velutipes* и препарата сравнения**  
**Hematologic parameters in mice under conditions of *F. velutipes* biomass dry powder intragastric administration and the reference drug**

Экспериментальные группы	Гематологические показатели				
	Лейкоциты, 10 <sup>3</sup> /мкл	Эритроциты, 10 <sup>6</sup> /мкл	Гемоглобин, г/дл	Гематокрит, %	Тромбоциты, 10 <sup>3</sup> /мкл
Интактная (контроль)	1.85±0.10	8.49±0.13	12.54±0.35	34.54±0.99	687.6±65.63
Вводился СПБ <i>F. velutipes</i> , 70 мг/кг	2.53±0.07*	9.18±0.27*	13.87±0.39*	38.31±1.23*	717.0±38.23
Вводился СПБ <i>F. velutipes</i> , 106 мг/кг	2.7±0.09*	8.59±0.25	13.22±0.24*	36.35±0.78*	742.16±64.32
Вводился СПБ <i>F. velutipes</i> , 140 мг/кг	3.22±0.33*	9.15±0.20*	15.32±1.13*	37.18±1.45*	641.0±62.54**
Эхинацея (референтный препарат) 106 мг/кг	3.23±0.38*	8.78±0.20	13.18±0.34	36.77±1.32	882.66±47.71*

Примечание: \* –  $p < 0.05$  по сравнению с контролем; \*\* –  $p < 0.05$  по сравнению с группой, получавшей референтный препарат

Исследованные показатели, характеризующие иммунный статус животных, свидетельствуют о наличии иммуномодулирующего действия в СПБ лекарственного гриба *F. velutipes*. Так, количество лейкоцитов периферической крови у мышей, которым вводили СПБ *F. velutipes* в дозах 70 мг/кг, 106 мг/кг и 140 мг/кг увеличивалось по сравнению с контролем на 36%, 46% и 74% соответственно. По этим результатам прослеживается четкая тенденция к дозозависимости действия исследуемой субстанции на иммунную систему.

У мышей, которым вводили препарат сравнения (таблетки Эхинацеи), количество лейкоцитов периферической крови возрастало на 74%. Стоит отметить, что по результатам однофакторного дисперсионного анализа достоверной разницы между показателями животных, которым вводили исследуемую субстанцию и эхинацею, не обнаружено.

Кроме выявленных нами изменений количества лейкоцитов периферической крови, а также в крови мышей, получавших субстанцию СПБ *F. velutipes* в дозах 70 мг/кг, 106 мг/кг и 140 мг/кг, показан рост количества эритроцитов и, соответственно, содержания гемоглобина и гематокрита.

При исследовании лейкоцитарной формулы крови мышей зарегистрировано достоверное уменьшение по сравнению с контролем количества лимфоцитов у животных, которым вводили СПБ *F. velutipes* в трех исследуемых дозах и Эхинацею. Действие субстанции было сопоставимо с таковой у референтного препарата при введении в дозах 70 мг/кг, 106 мг/кг и превосходило ее в условиях введения в дозе 140 мг/кг.

Выявлено, что дозозависимо увеличилось количество нейтрофилов относительно контроля при применении исследуемого препарата (табл. 2). При введении субстанции в дозе 140 мг/кг эффект был более выраженным, чем при введении препарата сравнения. В периферической крови мышей, получавших СПБ *F. velutipes* в вышеупомянутой дозе, количество нейтрофилов было на 63% выше, чем у мышей, которым вводили Эхинацею.

Количество моноцитов, базофилов и эозинофилов при применении как СПБ *F. velutipes*, так и Эхинацеи достоверно не менялось и оставалось на уровне интактных животных.

Таблица 2  
Table. 2

**Лейкоцитарная формула крови мышей в условиях внутрижелудочного введения сухого порошка биомассы *F. velutipes* по сравнению с референтным препаратом**  
**Leukocyte formula of mice blood under intragastric administration of *F. velutipes* biomass dry powder compared with the reference drug**

Экспериментальные группы	Показатели				
	Лимфоциты, %	Моноциты, %	Нейтрофилы, %	Эозинофилы, %	Базофилы, %
Интактная (контроль)	84.7±0.87	0.8 ±0.29	13.9±0,69	0.5±0.17	0.0±0.0
Вводился СПБ <i>F. velutipes</i> , 70 мг/кг	80.7±1.15*	0.33±0.21	18.3±1.15*	0.33±0.21	0.0±0.0
Вводился СПБ <i>F. velutipes</i> , 106 мг/кг	65.3±1.09*	0.83±0.31	33.5±1.2*	0.21±0.81	0.0±0.0
Вводился СПБ <i>F. velutipes</i> , 140 мг/кг	58.8±1.19* **	0.83±0.48	39.7±1.65* **	0.5±0.22	0.0±0.0
Эхинацея (референтный пре- парат) 106 мг/кг	74.7±2.95*	0.33±0.21	24.3±2.94*	0.67±0.33	0.0±0.0

Примечание: \* –  $p < 0.05$  по сравнению с контролем; \*\* –  $p < 0.05$  по сравнению с группой, получавшей референтный препарат.

### Выводы

Исследование периферической крови мышей в условиях введения СПБ лекарственного гриба *F. velutipes* в трех дозировках выявило ее иммуномодулирующее действие (рост общего количества лейкоцитов и нейтрофилов). По способности влиять на вышеуказанные показатели СПБ *F. velutipes* не уступал препарату сравнения.

### Список литературы References

- Антономов М.Ю. 2006. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных. Киев, : Изд-во ФМД: 558.
- Antonov M.Yu. 2006. Matematicheskaja obrabotka i analiz mediko-biologicheskikh dannyh [Mathematical processing and analysis of medical-biological data]. Kyiv, Publishing House FMD: 558. (in Russian)
- Буткевич Т.А., Круподорова Т.А., Барштейн В.Ю. 2013. Культивування біомаси гриба *Flammulina velutipes* на різних субстратах рослинного походження для використання у фармацевтичній промисловості. В зб.: Медична наука і практика XXI століття. Збірник тез наукових робіт учасників міжнародної науково-практичної конференції (м. Київ, 25-26 січня 2013 р.). К., «Київський медичний науковий центр»: 90–91.
- Butkevych T.A., Krupodorova T.A., Barshteyn V.Yu. 2013. The cultivation of *Flammulina velutipes* biomass on different substrates of vegetable origin for use in the pharmaceutical industry. In: *Medichna nauka i praktika XXI stolittja. Zbirnik tez naukovih robit uchasnikiv mizhnarodnoi naukovo-praktichnoi konferencii* [Medical science and practice of the XXI century. Abstracts of scientific works of participants of the International Scientific Conference (Kyiv, 25-26 January, 2013)]. Kyiv, «Kyiv Medical Research Center» Publishing House: 90–91. (in Ukrainian)
- Луцик Б.Д., Лаповець Л.Є., Лебедь Г.Б., 2011. Клінічна лабораторна діагностика. К., Медицина: 287.
- Lucik B.D., Lapovec' L.E., Lebed' G.B., 2011. *Klinichna laboratorna diagnostika* [Clinical Laboratory Diagnostics]. Kyiv, Medicine Publishing House: 287. (in Ukrainian)
- Butkevych T.A., Popovych V.P., Koziko N.O., 2014. Mycelial and polysaccharides production of *Flammulina velutipes*. В зб.: Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології. Матеріали IV науково-практичної конференції з міжнародною участю (16–17 жовтня 2014 р.). Х., НфаУ: 5.
- Butkevych T.A., Popovych V.P., Koziko N.O. 2014. Mycelial and polysaccharides production of *Flammulina velutipes*. In: *Suchasni dosjagnennja farmacevтичної tehnologii ta biotehnologii. Materiali IV naukovo-praktichnoi konferencii z mizhnarodnoju uchastju* [Recent advances in pharmaceutical technology and biotechnology. Materials IV Scientific Conference with international participation (16–17 October, 2014)]. Kh., NfaU Publishing House: 5. (in Ukrainian)
- Guidance for Industry and Reviewers. Estimating the Safe Starting Dose in Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers, U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Biologics Evaluation and Research (CBER) 2002. Available at: <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/98fr/02d-0492-gdl0002.pdf>.